

Avaliação e caracterização da presença de elementos potencialmente tóxicos em *Oryza sativa* L.

Ana Cristina Costa Trindade

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia do Ambiente

Orientadores: Doutor Miguel Pedro de Freitas Barbosa Mourato
Doutor Arlindo Lima

Júri:

Presidente: Doutora Cláudia Saramago de Carvalho Marques dos Santos Cordovil,
Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais:

- Doutora Maria Luísa Louro Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa
- Doutor Arlindo Lima, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta dissertação e que contribuíram para a minha formação enquanto pessoa. Em particular:

Aos meus orientadores Professor Doutor Miguel Mourato e Professor Doutor Arlindo Lima, por toda a ajuda e disponibilidade durante este processo, por toda a transmissão de conhecimentos e todas as revisões de texto necessárias para concluir este trabalho.

À Professora Doutora Luísa Louro quero prestar o meu agradecimento, por todos os esclarecimentos e incentivos durante o período de realização do trabalho.

Às colegas do Laboratório 17A, Inês Leitão e Joana Sales, por me orientarem e ajudarem, sempre disponíveis a cederem do seu tempo para que eu pudesse avançar neste projeto, por todo o companheirismo naquele laboratório, tornaram este percurso mais leve de certa forma. Um grande obrigado!

Aos colegas e amigos de curso, André Coutinho, António Reis, Catarina Jorge, Paulino Mahumana, Jéssica Silva e Inês Silva, por todos os momentos de descompressão e troca de ideias.

À Cristina Soares, a minha açoriana favorita, aquela colega e amiga que ouviu todos os desabafos, partilhámos ansiedades e ainda trocámos risadas.

Ao colega e amigo André Azevedo, sempre disponível a ajudar, a dar apoio moral e a trocar ideias (aqueles momentos *mindblowing*) e, ainda pelos momentos de descontração. Viva o mês de agosto no ISA!

Ao colega de curso Bruno Dionísio, pela ajuda no Horto no tratamento dos solos, foi preciso muito músculo para desagregar aquele solo.

Ao senhor Felício por todos os seus préstimos na parte experimental que decorreu no Horto.

Aos meus amigos mais chegados, que levaram com os meus devaneios, Laura Silva (a minha *tuff*, longe ou perto sempre com uma palavra amiga e sempre disponível a ouvir-me, um grande obrigada), Ana Lúcia Trindade (a minha maninha, sempre animada e disposta a dar uma palavra amiga de apoio), Ricardo Vidigal (pela força e palavras de incentivo constantes, assim como pela ajuda nas regas aos fins de semana), e a todos os meus outros amigos que de alguma forma contribuíram para eu chegar aqui.

Aos meus pais, por todo o apoio e força, por sempre terem feito tudo para que nada me faltasse, por toda a paciência e preocupação, e principalmente, por todo o carinho e amor e por sempre quererem o meu bem. Assim, como a toda a minha família, que ora mais perto ora mais longe, estiveram presentes e sempre se preocuparam comigo e torceram por mim.

Agradeço também toda a ajuda dispensada na análise mecânica dos solos em estudo pela Técnica Maria João Novo, do Laboratório de Pedologia do Departamento de Recursos Naturais, Ambiente e Território. Assim como, ao Técnico Superior Miguel Martins, do Laboratório 10, por toda a ajuda no processo de digestão ácida. E ainda, não posso deixar de agradecer, ao Professor Doutor Nuno Cortez pela ajuda na realização do Método de Keen-Raczowski para análise dos solos.

A todos, bem hajam.

RESUMO

Esta dissertação teve como objetivo avaliar a ocorrência de contaminação em plantas de arroz devido à presença de elementos potencialmente tóxicos (EPT) em solos onde esta cultura é praticada regularmente.

Foram estudadas duas variedades de arroz (Gládio e Ronaldo) em dois solos diferentes (Agro (E) e Lez). Os solos foram caracterizados em relação ao teor de EPT. No solo Lez foi encontrada uma maior concentração de todos os EPT.

No caso do arsênio, o Valor de Referência (11 mg As/kg MS solo) no solo Lez é ultrapassado, o que pode constituir um problema de segurança alimentar. Os elementos em maior concentração nos solos estudados foram o ferro, seguido do manganês, zinco e cobre. No mesmo tipo de solo não houve diferenças entre as duas variedades de arroz o que indica que o solo é majoritariamente responsável pela absorção dos elementos pela planta.

Nas sementes de ambas as variedades de arroz, o elemento em maior concentração é o ferro, o que se explica pela sua mobilidade e facilidade de ligação a outros elementos. O cádmio é o elemento em menor concentração em todas as partes da planta, estando a sua concentração na semente abaixo do Limite Máximo estabelecido pelo Regulamento (CE) Nº 1881/2006, da Comissão de 19 de dezembro de 2006, pelo que não constitui perigo de segurança alimentar. Pelo Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho, os elementos Cd, Cu, Cr, Pb e Zn estão dentro do Valor Máximo Admissível para a utilização da parte aérea como matéria fertilizante, o que facilita a utilização do restolho da cultura de arroz para a fitorremediação de solos, por exemplo, em áreas ardidas de modo a evitar a erosão dos solos. Na raiz, o ferro é o elemento em maior concentração, o que pode ser justificado pela sua elevada concentração nos solos.

Palavras-Chave: *Oryza sativa*, Elementos Potencialmente Tóxicos, arsênio, cádmio, fitorremediação.

ABSTRACT

This work aims to evaluate the occurrence of contamination in rice plants due to the presence of potentially toxic elements (PTE) in soils where this crop is normally produced.

Two rice varieties (Gladio and Ronaldo) were studied in two different soils (Agro (E) and Lez). The soils were characterized in relation to the PTE content. In Lez soil a higher concentration of all PTE was found. In the case of arsenic, the Reference Value (11 mg As / kg MS soil) in Lez soil was exceeded, which may be a food safety problem. The elements in higher concentration in the studied soils were iron, followed by manganese, zinc and copper. In the same soil there were no differences between the two rice varieties indicating that the soil is mainly responsible for the absorption of the elements by the plant.

In seeds of both rice varieties, Fe is the element with the highest concentration, which is explained by its mobility and ease of bonding with other elements in the plant. Cadmium is the element with the lowest concentration in all parts of the plant, and in seed its concentration is below the Maximum Limit established by Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 and therefore does not constitute a food safety hazard. By the Portuguese legislation (DL 103/2015 of June 15) we can conclude that the elements Cd, Cu, Cr, Pb and Zn are below the Maximum Permissible Value for the use of aerial part as fertilizer, which facilitates the use of straw in phytoremediation of soils, for example in areas burned to prevent soil erosion. At the root, iron is the element in the highest concentration, which may be justified by its high concentration in soils.

Keywords: *Oryza sativa*, Potentially Toxic Elements, arsenic, cadmium, phytoremediation.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	I
RESUMO	II
ABSTRACT.....	III
ÍNDICE.....	IV
LISTA DE QUADROS.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	X
1. OBJETIVOS	1
2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO	2
2.1. O Arroz	2
2.1.1. Morfologia	2
2.1.2. Produção e consumo.....	4
2.1.3. Variedades.....	5
2.1.4. Composição do grão de arroz	5
2.2. Os Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT)	7
2.2.1. EPT no solo	7
2.2.2. Arsénio.....	10
2.2.3. Cádmio	11
2.2.4. Chumbo	12
2.2.5. Crómio	13
2.2.6. Elementos Essenciais.....	14
2.2.7. Disponibilidade de EPT na cultura de arroz	18
2.2.8. Enquadramento Legislativo	20
2.3. O Solo.....	23
2.3.1. Componentes e propriedades do solo.....	23
2.3.2. Degradação do solo.....	27
3. MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1. Material em estudo	30

3.2.	Caracterização do solo	30
3.2.1.	Análise Mecânica	30
3.2.2.	Método de Keen-Raczkowski	30
3.2.3.	Determinação do pH e condutividade elétrica	30
3.2.4.	Carbono orgânico total e matéria orgânica	31
3.2.5.	Concentração de micronutrientes extraíveis	31
3.2.6.	Concentração de macronutrientes extraíveis	32
3.3.	Instalação do ensaio	32
3.4.	Teor de matéria seca em solos e plantas	35
3.5.	Determinação de elementos totais em solos e plantas	35
3.6.	Tratamento Estatístico	36
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1.	Caracterização do solo	37
4.1.1.	Solo pré-ensaio	37
4.1.2.	Solo pós-ensaio	39
4.2.	Teor de EPT no solo	40
4.2.1.	Arsênio	40
4.2.2.	Cádmio	41
4.2.3.	Chumbo	42
4.2.4.	Crômio	42
4.2.5.	Cobre	44
4.2.6.	Ferro	44
4.2.7.	Manganês	45
4.2.8.	Zinco	45
4.2.9.	Conclusões intercalares	47
4.3.	Teor de EPT na planta	48
4.3.1.	Semente	48
4.3.2.	Parte aérea	50
4.3.3.	Raiz	53
4.3.4.	Proporção relativa de EPT nas diferentes partes da planta	57
4.4.5.	Conclusões intercalares	59

5. CONCLUSÕES	61
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	62
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Composição do grão de arroz de acordo com o tipo de tratamento (mg elemento/ 100 g de parte edível).....	6
Quadro 2 - Concentrações usuais de alguns elementos no solo.	8
Quadro 3 - Valores máximos admissíveis para os teores «totais» de metais pesados na matéria fertilizante com componentes orgânicos, por classe (mg/ kg MS).....	20
Quadro 4 - Limites admissíveis dos principais EPT em estudo, de acordo com a legislação em vigor.	21
Quadro 5 - Limites admissíveis dos elementos essenciais em estudo, de acordo com a legislação em vigor.	22
Quadro 6 - Densidade aparente de alguns tipos de solo.	26
Quadro 7 - Classes de salinidade dos solos e respetiva CE.....	27
Quadro 8 - Características principais das variedades em estudo.	32
Quadro 9 - Preparação de Solução Stock de Macronutrientes.	34
Quadro 10 - Diferentes fases de crescimento da planta de arroz nas diferentes colheitas.	34
Quadro 11 - Caracterização dos solos pré-ensaio.	38
Quadro 12 - Caracterização dos solos pós-ensaio.	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Morfologia da planta de arroz.....	3
Figura 2 - Fases de crescimento e a sua duração em arroz de sementeira direta.	3
Figura 3 - Produção média de arroz por país (em toneladas).....	4
Figura 4 - Tipos de contaminantes mais comuns encontrados no solo europeu.	8
Figura 5 - Composição volumétrica de um solo mineral adequado ao crescimento vegetal. .	24
Figura 6 - Diagrama triangular da textura do solo de Gomes e Silva (1962).	25
Figura 7 - Esquema representativo do ensaio.....	33
Figura 8 - Ensaio na fase inicial, intermédia e final.	33
Figura 9 - Diagrama representativo da determinação analítica dos elementos em estudo, no solo e nas plantas.....	36
Figura 10 - Teor de arsénio (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.	41
Figura 11 - Teor de cádmio (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.	42
Figura 12 - Teor de chumbo (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.	43
Figura 13 - Teor de crómio (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.	43
Figura 14 - Teor de cobre (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.	44
Figura 15 - Teor de ferro (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.	45
Figura 16 - Teor de manganês (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.	46
Figura 17 - Teor de zinco (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.	46
Figura 18 - Concentração (mg/kg MS) de ferro, manganês e zinco na semente, nas 4 modalidades do estudo.	49
Figura 19 - Concentração (mg/kg MS) de arsénio, cádmio e chumbo na semente, nas 4 modalidades do estudo.	49
Figura 20 - Concentração (mg/kg MS) de cobre e crómio na semente, nas 4 modalidades do estudo.	50
Figura 21 - Concentração (mg/kg MS) de ferro, manganês e zinco na parte aérea, nas 4 modalidades do estudo.	51
Figura 22 - Concentração (mg/kg MS) de arsénio, cobre e crómio na parte aérea, nas 4 modalidades do estudo.	52

Figura 23 - Concentração (mg/kg MS) de cádmio e chumbo na parte aérea, nas 4 modalidades do estudo.	53
Figura 24 - Concentração (mg/kg MS) de ferro na raiz, nas 4 modalidades do estudo.	54
Figura 25 - Concentração (mg/kg MS) de arsênio e manganês na raiz, nas 4 modalidades do estudo.	55
Figura 26 - Concentração (mg/kg MS) de cádmio na raiz, nas 4 modalidades do estudo.	56
Figura 27 - Concentração (mg/kg MS) de chumbo, cobre, crômio e zinco na raiz, nas 4 modalidades do estudo.	56
Figura 28 - Proporção de cada elemento nas diferentes partes da planta, em função do solo (Lez, Agro (E)) e da variedade (Ronaldo, Gládio).	57

LISTA DE ABREVIATURAS

CCDR – Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional

CE – Condutividade Elétrica

CTC – Capacidade de Troca Catiônica

DP – Desvio Padrão

EDTA – Ácido etilenodiaminotetraacético

EEA – *European Environment Agency* (Agência Europeia do Ambiente)

EFSA – *European Food Safety Authority* (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)

EPT – Elementos potencialmente tóxicos (em inglês, PTE – *Potentially Toxic Elements*)

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

EU – *European Union* (União Europeia)

FAO – *Food and Agriculture Organization* (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)

ICP-OES – Espectrofotometria de emissão atômica acoplada por plasma induzido

LM – Limite Máximo

M – Massa

MO – Matéria Orgânica

MS – Massa Seca

ODS – Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

PF – Peso Fresco

PTMI – Ingestão tolerável mensal provisória (do inglês, *Provisional Tolerable Monthly Intake*)

PTWI – Ingestão tolerável semanal provisória (do inglês *Provisional Tolerable Weekly Intake*)

UNGA – *United Nations General Assembly* (Assembleia Geral das Nações Unidas)

VMA – Valor Máximo Admissível

VMR – Valor Máximo Recomendado

VR – Valor de Referência

WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde)



1. OBJETIVOS

A contaminação dos solos com níveis tóxicos de elementos potencialmente tóxicos (EPT) e, consequentemente, a contaminação de plantas representa um risco potencial para a saúde pública e para o ambiente, devido à possibilidade de acumulação destes EPT na parte edível das plantas, assim como a ocorrência da acumulação no restolho da cultura de arroz que pode condicionar a sua posterior utilização na agricultura.

Esta contaminação provém principalmente da ausência de controlo dos processos que são assumidamente fontes emissoras de poluentes e de eventuais contaminantes (indústria, agricultura intensiva, poluição atmosférica, entre outras).

O objetivo deste trabalho é avaliar a ocorrência de contaminação em plantas de arroz devido à presença de EPT, em solos onde esta cultura é praticada regularmente. Com este ensaio pretendeu-se avaliar o grau de contaminação, não só na planta e no restolho, como na semente, o tipo de elemento presente e os níveis de acumulação verificada. O conhecimento desta situação permitirá no futuro medidas para combater este problema, e eventualmente o estudo de técnicas de remediação de solos com recurso a plantas, como é o caso da fitorremediação.

2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

2.1. O Arroz

A origem do arroz há muito que é debatida, a planta é de tal antiguidade que o exato tempo e local do seu primeiro desenvolvimento talvez nunca seja conhecido. É certo, no entanto, a domesticação das fileiras de arroz como um dos desenvolvimentos mais importantes na história da Humanidade. O arroz alimentou mais pessoas durante mais tempo do que qualquer outra cultura.

Desde os primórdios, em diferentes partes da Ásia, o processo de difusão levou o arroz em todas as direções e hoje é cultivado em todos os continentes, exceto na Antártida. Os árabes introduziram o arroz no sul da Península Ibérica no século VIII e há evidências de culturas de arroz em Portugal no século XIII. Os contrastes nas condições geográficas, económicas e sociais sob as quais o arroz é produzido são realmente notáveis, desde as áreas mais húmidas do mundo até às zonas mais áridas (GRiSP, 2013).

Existem duas espécies do género *Oryza* de elevada importância para a nutrição humana: *Oryza sativa* (originária da Ásia), cultivada em todo o mundo, e *Oryza glaberrima* (de origem africana), cultivada em partes da África Ocidental. Ambas são espécies de plantas cultivadas, o que significa que estas se desenvolveram como resultado do crescimento e desenvolvimento humano ao longo de muitos séculos, selecionando as características consideradas mais importantes (por exemplo, sabor, rendimento e necessidade de água) (Chang & Bardenas, 1965; GRiSP, 2013).

Embora não seja um alimento de primeira necessidade nem uma cultura importante na Europa, o arroz tem um importante significado sócio-cultural e importância ecológica em vários países mediterrânicos europeus (GRiSP, 2013).

2.1.1. Morfologia

A planta de arroz é uma planta herbácea incluída no clado das monocotiledóneas, pertencente à família das gramíneas (*Poaceae*) e ao género *Oryza* (Chang & Bardenas, 1965; GRiSP, 2013).

O sistema radicular desta planta é constituído por raízes finas, longas e fibrosas que permitem a sua rápida fixação ao solo. O caule da planta de arroz é composto por um colmo principal e um número variável de colmos primários e secundários (perifilhos), constituído por uma série de nós e entrenós. As suas folhas são longas e finas, com múltiplas inflorescências na extremidade, a panícula. Cada panícula pode conter de 70 a 300 sementes (frutos), logo uma planta pode produzir milhares de grãos. O grão de arroz é uma cariopse constituída por casca, pericarpo, tegumento, farelo, camada de aleurona e gérmen (Chang & Bardenas, 1965; Zhang, 2009) (**Figura 1**).

A germinação e o desenvolvimento de plântulas começam quando a dormência das sementes termina, a semente absorve a água adequada e é exposta a uma temperatura que varia entre 10 e 40°C (Yoshida *et al.*, 1976; GRiSP, 2013). As plantas de arroz em cultura, quer nos sistemas alagados ou de sequeiro, podem crescer entre 0,6 e 1,8 metros, dependendo da variedade e da fertilidade do solo (Zhang, 2009).



Esta é uma planta anual, bem-adaptada a zonas quentes e húmidas, e também ao ambiente aquático. O seu ciclo de desenvolvimento ocorre em três fases principais: vegetativa, reprodutiva e maturação. A duração destas fases depende da época de sementeira, região de cultivo e condições de fertilidade dos solos (Chang & Bardenas, 1965).

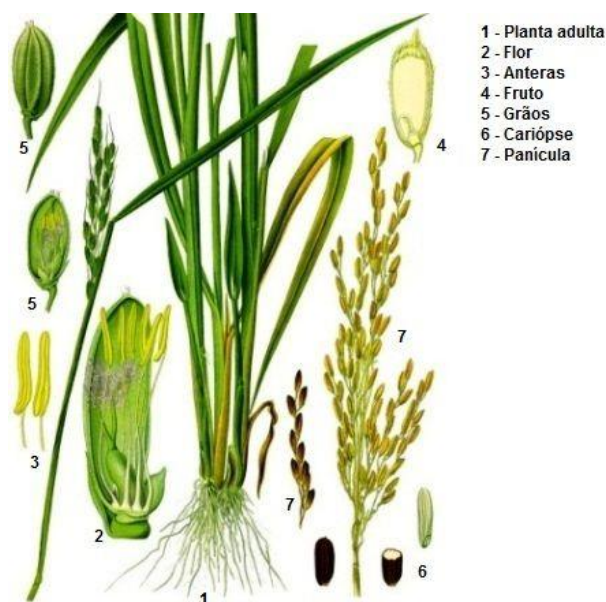


Figura 1 - Morfologia da planta de arroz.

Fonte:

https://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/informacoes/caracteristicas_361559.html

(Acedido a 5 de junho de 2018)

A fase vegetativa inicia-se com a germinação do grão, marcada pelo surgimento da radícula. A fase reprodutiva ocorre com a formação da panícula até à floração. E, por sua vez, a fase de maturação ocorre da floração ao amadurecimento, e inclui a formação do grão (**Figura 2**).

Fases de crescimento

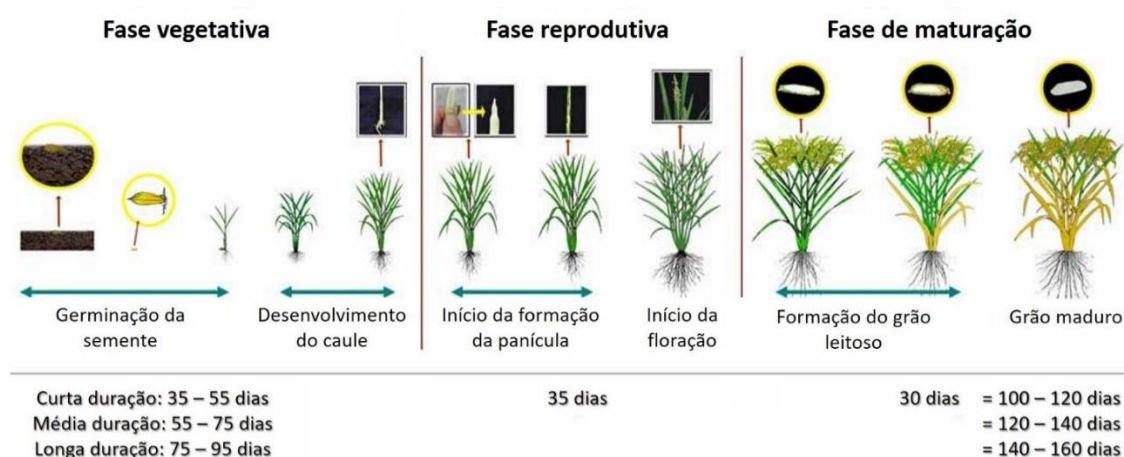


Figura 2 - Fases de crescimento e a sua duração em arroz de sementeira direta.

Adaptado de: <http://www.knowledgebank.irri.org/step-by-step-production/pre-planting/crop-calendar> (Acedido a 05 de junho de 2018)



Após a colheita e secagem, os grãos de arroz seguem para o descasque e branqueamento, cujo objetivo é remover a casca e o pericarpo originando um grão branco e inteiro. Dependendo do grau de moenda do arroz pode-se obter arroz *paddy* (com casca), arroz integral (com pericarpo) e arroz branqueado. O arroz *paddy* não é sujeito a nenhuma fase de processamento. No arroz integral a casca é removida, mas o pericarpo, tegumento, camada de aleurona e gérmen mantêm-se intactos. O arroz branco é sujeito à remoção da casca e do pericarpo (Chang & Bardenas, 1965).

2.1.2. Produção e consumo

A produção de arroz pode ocorrer em regime alagado ou de sequeiro. Na cultura em regime alagado os arrozais encontram-se em terrenos inundados, sendo que este método de cultivo corresponde a 85 % da produção mundial de arroz. Em regiões de elevada humidade ou em solos de elevada fertilidade, pode produzir-se arroz em sequeiro, no entanto é um método de cultivo menos produtivo porque a captação de nutrientes pela planta é menos eficiente (Zhang, 2009). O arroz produzido em Portugal é na sua totalidade cultivado em regime alagado (Novarroz, 2013).

Anualmente são produzidas cerca de 756 milhões de toneladas de arroz (FAO, 2017b). Os maiores produtores de arroz no ano de 2016 foram a China, a Índia, a Indonésia, o Bangladesh e o Vietname, correspondendo a cerca de 90% da produção mundial (**Figura 3**). Neste mesmo ano em Portugal produziu-se cerca de 158 000 toneladas de arroz (FAOSTAT, 2017).

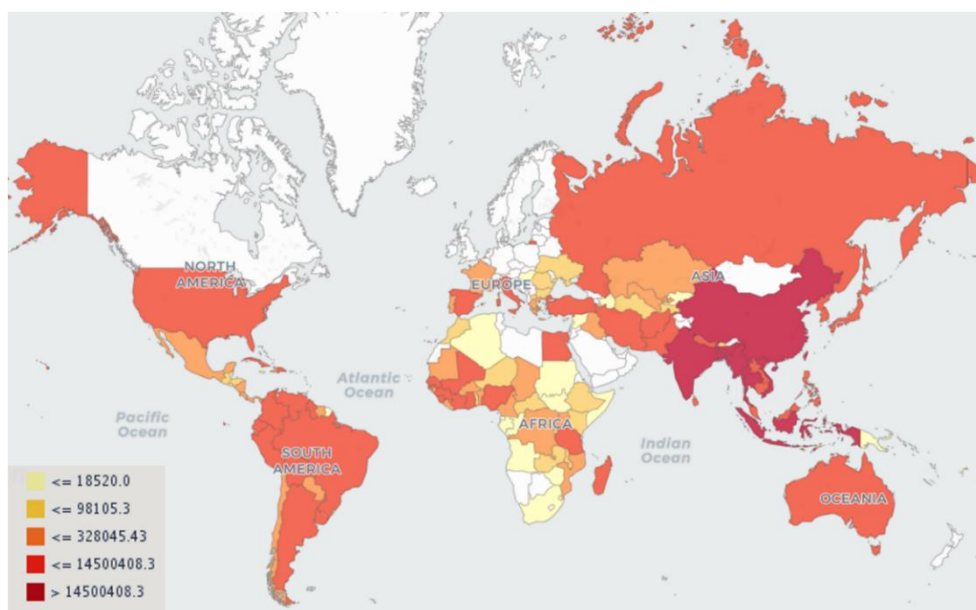


Figura 3 - Produção média de arroz por país (em toneladas).

Fonte: adaptado de FAOSTAT, 2017.

Em Portugal, no início do século XX, foram estabelecidas as bases para a produção de arroz e, nos anos 30, os arrozais cresceram e as zonas de cultivo estenderam-se a outras regiões do país (Novarroz, 2013).



As principais culturas de arroz em Portugal localizam-se no Vale do Sado, Vale do Tejo e Sorraia, e Vale do Mondego (Almeida *et al.*, 2013).

Segundo o Instituto Nacional de Estatística, no ano 2016 o consumo de arroz em Portugal foi em média 15 kg *per capita* (INE, 2018), estando acima da média europeia (4,6 kg *per capita*/ano). A nível mundial a média de consumo ronda os 57,2 kg *per capita*/ano (FAOSTAT, 2017).

2.1.3. Variedades

Existem mais de 5000 variedades de arroz e continuamente aparecem novas variedades resultantes de melhoramentos e cruzamentos genéticos (Qi *et al.*, 2009). O melhoramento de alguns fatores genéticos tem sido um dos principais responsáveis pelo aumento das produções, quer em qualidade quer em quantidade (este último aspeto é de especial importância uma vez que o arroz constitui a base da alimentação de vastas camadas populacionais). Verifica-se assim, a obtenção de plantas geneticamente mais produtivas e/ou de maior valor nutricional e mais tolerantes a adversidades ambientais, tais como resistência à acama, à salinidade, a pragas e a doenças.

O arroz apresenta genomas completamente sequenciados de duas subespécies, *Indica* e *Japonica* (Gao & Innan, 2008). O arroz agulha e o arroz carolino pertencem à subespécie *Indica* e *Japonica*, respetivamente. As variedades da subespécie *Indica* são geralmente adaptadas a climas tropicais, enquanto as variedades da subespécie *Japonica* são adaptadas a climas mais temperados (Lu *et al.*, 2009). No entanto, em países produtores com clima temperado podem semear-se variedades em que os grãos apresentam morfologia semelhante à morfologia dos grãos da subespécie *Indica*, comprimento superior a 6,0 mm e relação comprimento/largura superior ou igual a 3, mas que são, na verdade, da subespécie *Japonica*. Distinguem-se, assim, em cultura, variedades do tipo ou padrão *Indica*, Longo B ou agulha e variedades Longo A ou carolino, sendo nestas últimas o comprimento do grão superior a 6,0 mm, mas com relação comprimento/largura superior a 2 e inferior a 3.

Neste trabalho, o estudo vai incidir sobre duas variedades cultivadas atualmente em Portugal, “Gládio” (subespécie *Indica*) e “Ronaldo” (subespécie *Japonica*).

2.1.4. Composição do grão de arroz

Devido à importância deste alimento na dieta, a sua composição e as suas características nutricionais estão diretamente relacionadas com a saúde de populações que dele dependem para a sobrevivência.

Este cereal constitui uma fonte de energia, devido ao seu alto teor de amido (hidrato de carbono), fornecendo também proteínas, lípidos, vitaminas e minerais. No entanto, o seu teor em lípidos é baixo relativamente aos restantes compostos.

Diferentes níveis de processamento do grão de arroz provocam alterações na sua composição. No **Quadro 1**, é possível verificar as diferenças na composição dos diferentes tipos de tratamento, estes dados são fornecidos pelo INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge e estão disponíveis em: <http://portfir.insa.pt/> (INSA, 2015).



Quadro 1 - Composição do grão de arroz de acordo com o tipo de tratamento (mg elemento/ 100 g de parte edível).

		Arroz integral cru	Arroz agulha cru	Arroz carolino branqueado cru
Minerais	Sódio	3	6	6
	Potássio	250	94	110
	Cálcio	9	13	11
	Fósforo	270	87	92
	Magnésio	110	32	13
	Ferro	1,7	0,6	0,6
	Zinco	1,4	1,3	1,3
Lípidos		2,5	0,4	0,5
Hidratos de Carbono		71,6	78,1	79,6
Proteínas		8,6	6,7	7,4

De referir, que além do nível de processamento, a composição do grão de arroz diferencia-se também entre as variedades, o que provoca interesse no cruzamento genético, de modo a reduzir a absorção de EPT pela planta de arroz, uma vez que há variedades mais tolerantes a EPT que outras (Norton, 2019).



2.2. Os Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT)

Existem diferentes termos, tais como “metais pesados”, “metais vestigiais”, “elementos vestigiais” e “elementos inorgânicos vestigiais”, para designar os elementos que ocorrem em concentrações reduzidas no ambiente (água, ar e solo), e também nos sistemas biológicos, como as plantas (Nagajyoti *et al.*, 2010).

O termo “metais pesados” tem diferentes definições consoante os autores, sendo obtido através de vários parâmetros, entre os quais a densidade, a massa atômica e o número atômico dos elementos. Neste estudo, considera-se o grupo de metais e metalóides de densidade relativamente alta ($> 5 \text{ g/cm}^3$), como o cádmio (Cd), o chumbo (Pb), o cobre (Cu), o ferro (Fe), o zinco (Zn), entre outros, que podem causar problemas de toxicidade mesmo em concentrações reduzidas. Outros não-metais que são frequentemente considerados em conjunto com metais pesados incluem, por exemplo, o arsénio (As), um metalóide (Duffus, 2002; Nagajyoti *et al.*, 2010). Muitos deles são micronutrientes essenciais para plantas, animais e seres humanos, mas em altas concentrações podem causar fitotoxicidade e prejudicar a saúde humana por causa da sua natureza não biodegradável, o que faz com que eles se acumulem facilmente em tecidos e organismos vivos (Nagajyoti *et al.*, 2010; Science Communication Unit, 2013).

Para uma designação mais abrangente, ao longo deste trabalho utiliza-se a designação de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT) e inclui metais pesados e metalóides (cádmio, chumbo, zinco, cobre, ferro, arsénio, entre outros), considerando que, independentemente dos critérios relativos à classificação química, são elementos que causam toxicidade e podem estar presentes nos meios onde se desenvolvem as culturas de arroz.

2.2.1. EPT no solo

A elevada concentração de EPT interfere na resiliência dos vários sistemas ecológicos, afetando desta forma os diferentes serviços de ecossistema¹. Estes elementos são considerados poluentes do solo porque a sua presença tem consequências negativas para qualquer organismo, ocorrem de forma generalizada no ambiente e, geralmente, encontram-se em concentrações superiores à esperada ou fora do seu local habitual. Desta forma, a acumulação de EPT nos solos é preocupante na produção agrícola, devido aos efeitos adversos na segurança e comercialização dos alimentos, no crescimento das culturas devido à sua fitotoxicidade, e no sistema biológico do solo (Nagajyoti *et al.*, 2010; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).

O termo “contaminação do solo” tem sido frequentemente usado como sinónimo de poluição do solo. No entanto, a contaminação do solo ocorre quando a concentração de um produto químico ou substância é maior do que a que ocorre naturalmente, mas não está necessariamente a afetar negativamente o ecossistema (Kabata-Pendias, 2011; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).

¹ serviços de ecossistema: benefícios (diretos ou indiretos) que o ser humano obtém dos ecossistemas (Reid *et al.*, 2005; Costanza *et al.*, 1997).



No **Quadro 2**, é possível observar as concentrações usuais no solo dos EPT em estudo.

Quadro 2 - Concentrações usuais de alguns elementos no solo.

(Adaptado de Varennes, 2003; Nagajyoti, 2010)

Elemento	Concentração usual (mg/kg de solo)
As	< 5 a 40
Cd	< 1 a 2
Cu	2 a 100
Cr	5 a 3000
Fe	7000 a 55000
Mn	100 a 4000
Pb	10 a 200
Zn	25 a 300

Na Europa, os EPT são uma das maiores causas de contaminação dos solos, seguidos dos óleos minerais (**Figura 4**).

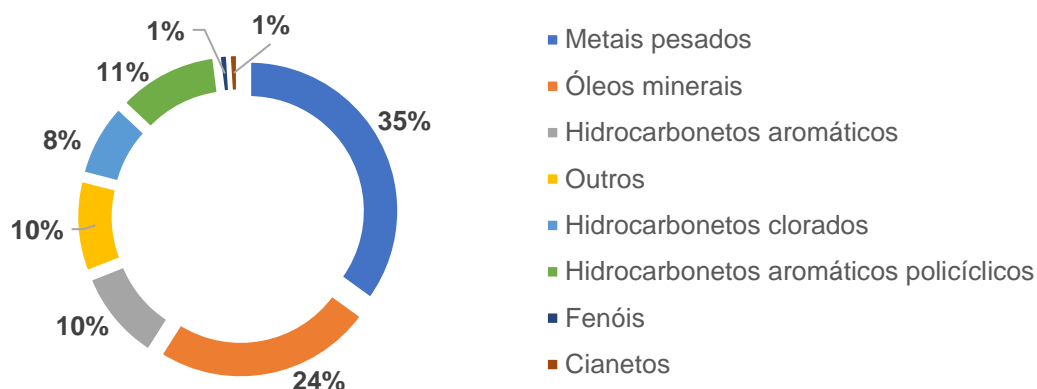


Figura 4 - Tipos de contaminantes mais comuns encontrados no solo europeu.

Adaptado de: (Van Liedekerke *et al.*, 2014).

Diferentes contaminantes têm diferentes efeitos na saúde humana e no ambiente, dependendo das suas propriedades, por exemplo: do seu potencial de dispersão, da sua solubilidade em água, e da sua biodisponibilidade (Van Liedekerke *et al.*, 2014).

Existem diversas fontes de EPT no solo, sendo estas classificadas como naturais ou antropogénicas. A meteorização das rochas e a atividade vulcânica são fontes naturais de EPT no solo, no entanto, a meteorização é um processo lento e que se considera não ter grande contributo para a contaminação do solo, ao invés da atividade vulcânica que liberta maior quantidade destes elementos para a atmosfera que são posteriormente depositados no solo e na água através do vento e da precipitação (Varennes, 2003; Nagajyoti *et al.*, 2010).



As principais fontes antropogénicas de EPT no solo são industriais e agrícolas.

As fontes industriais com mais impacto na contaminação de solos com EPT são:

- Indústria mineira, tais como a extração de minério e de combustíveis fósseis, e o depósito de rejeitados;
- Indústria energética, centrais nucleares e combustão para produção energética;
- Indústria química, por exemplo, petroquímicas, a produção de tintas e agroquímicos. (Varennnes, 2003; Nagajyoti *et al.*, 2010; Fan *et al.*, 2017; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).

Os fertilizantes inorgânicos e orgânicos são as fontes agrícolas mais importantes de EPT no solo, devido ao seu uso excessivo e inadequado. A calagem (incorporação de calcário no solo), a adição de estrume no solo, as águas de rega e os pesticidas são também importantes fontes agrícolas de EPT (Nagajyoti *et al.*, 2010; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018). Outra fonte com impacto na emissão de EPT para o solo é a queima de combustíveis fósseis na cadeia de transportes, por exemplo, a queima de gasolina com chumbo foi uma importante fonte deste elemento no ambiente (Nagajyoti *et al.*, 2010), sendo retirada do mercado em Julho de 1999, pela aplicação do Decreto-Lei n.º 89/2008, de 30 de Maio (que revoga o Decreto-Lei n.º 186/99, de 31 de Maio).

As concentrações de EPT no solo variam consideravelmente ao longo do tempo. Foram observadas diversas alterações sob a influência de fatores como o tempo, o tipo de vegetação, a atividade microbiana e a quantidade de água no solo (Kabata-Pendias, 2011).

Se as concentrações destes elementos ultrapassarem os limites legais estabelecidos ou causarem danos significativos nos ecossistemas e na saúde humana e animal é necessário proceder à remediação do solo. A remediação é um conjunto de métodos e processos que limita, remove, degrada ou torna menos prejudiciais os contaminantes do solo (Varennnes, 2003). Segundo Pilon-Smits (2005), a fitorremediação é uma tecnologia eficiente para uma variedade de poluentes orgânicos e inorgânicos.

As técnicas de remediação podem ser divididas em dois grupos principais: remediação *in situ* (no local) e *ex situ* (remoção do solo contaminado para tratamento fora do local) (Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018). Diversos fatores influenciam a escolha da técnica de remediação, tais como: a localização do solo, a área atingida, a natureza e grau de contaminação e o risco que representa, a função e futuro uso do local, assim como o custo dos métodos de remediação disponíveis (Varennnes, 2003).

Um exemplo de remediação *in situ* é a fitorremediação, isto é, a utilização de plantas para a estabilização, extração, degradação ou volatilização dos contaminantes do solo. Existem diversas plantas que toleram a presença em concentrações elevadas destes contaminantes nos solos, entre os quais elementos inorgânicos, como os EPT. No entanto, estes elementos inorgânicos não podem ser degradados, mas podem ser remediados por meio de estabilização ou absorvidos pelas plantas que mais tarde são colhidas e incineradas.

As espécies vegetais diferem amplamente na sua capacidade de acumular metais pesados, mesmo entre cultivares e variedades dentro da mesma espécie (Zhou *et al.*, 2016). As plantas capazes de acumular estes elementos em grandes concentrações, relativamente a outras espécies no mesmo solo, são designadas de hiperacumuladoras (Kabata-Pendias, 2011). As plantas hiperacumuladoras



podem armazenar cerca de 10 a 500 vezes mais metais nos caules e folhas do que as espécies normais (Ghnaya *et al.*, 2009). No caso dos metais essenciais, a curva dose/resposta apresenta três fases: deficiência, crescimento ótimo e toxicidade. Por outro lado, para os metais não-essenciais a fase de deficiência não existe, e apenas ocorrem as fases de tolerância e toxicidade para as concentrações mais elevadas (Van der Ent *et al.*, 2013).

A fitorremediação tem como principal vantagem o seu custo económico, o seu impacto positivo na paisagem e ser uma tecnologia complementar para métodos de remediação convencionais e invasivos, como a incineração ou a escavação do solo. A maior desvantagem desta técnica é a possível contaminação da cadeia alimentar, e, portanto, é necessário um maior controlo das plantas colhidas caso sejam plantas utilizadas na alimentação, tanto humana como de animais. Além disso, se a concentração do contaminante for muito elevada, pode levar à inibição da cultura e limitar o processo de fitorremediação (Pilon-Smits, 2005).

No sentido de melhorar esta técnica são efetuados diversos estudos sobre a absorção destes elementos contaminantes por diversas plantas.

2.2.2. Arsénio

O arsénio é um elemento que aparece na natureza normalmente combinado com outros elementos numa variedade de formas orgânicas e inorgânicas. É um elemento com densidade de 5,5 g/cm³, na tabela periódica encontra-se no grupo 15 e quarto período, e é um metaloide, ou seja, um elemento que tem a aparência física e as propriedades de um metal, mas se comporta quimicamente como um não-metal (Gomez-Caminero *et al.*, 2001; Duffus, 2002). Pode existir em quatro estados de oxidação: -3, 0, +3 e +5. Sob condições redutoras, o arsenito (As (III)), também representado por As³⁻, é a forma dominante e mais móvel no solo. O arsenato (As (V)), também representado por As⁵⁺, é geralmente a forma estável em ambientes oxigenados (Gomez-Caminero *et al.*, 2001).

Ocorre em quantidades mínimas em todas as rochas, solo, água e ar, no entanto a sua concentração pode ser mais elevada em certas áreas, como resultado de atividades antrópicas, pois é um elemento utilizado industrialmente como agente de liga, bem como no processamento de vidro, pigmentos, têxteis, papel, adesivos metálicos, conservantes de madeira e munições. O arsénio é também usado no processo de curtume de peles e, até certo ponto, em pesticidas, aditivos para rações e produtos farmacêuticos. Quanto à sua origem natural deve-se essencialmente à atividade vulcânica (Smith *et al.*, 1998; Gomez-Caminero *et al.*, 2001; Science Communication Unit, 2013; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).

Embora os minerais e compostos de arsénio sejam facilmente solúveis, a sua migração no solo é muito limitada devido à forte sorção por argilas, hidróxidos e matéria orgânica (Gomez-Caminero *et al.*, 2001, Kabata-Pendias, 2011). Muitos fatores do solo influenciam a quantidade de arsénio disponível para a absorção de plantas, tais como: o potencial redox, o pH, o conteúdo de matéria orgânica, e as concentrações de ferro, manganês, fósforo e carbonato de cálcio, assim como, a componente microbiana do solo (Mandal & Suzuki, 2002; Brammer & Ravenscroft, 2009).



Em solos arejados utilizados para culturas como o trigo, o milho e a maioria dos vegetais, o arsénio está presente principalmente como As (V) e, como tal, é provável que esteja na fase sólida. Portanto, em tais solos, este elemento é rapidamente adsorvido por hidróxidos de ferro e torna-se em grande parte indisponível para as plantas (Brammer & Ravenscroft, 2009).

Os sintomas da toxicidade por arsénio nas plantas são maioritariamente o emurchecimento das folhas, mudança da coloração das folhas para violeta (devido ao aumento da antocianina), descoloração das raízes e plasmólise celular. O sintoma mais comum, no entanto, é a redução do crescimento (Kabata-Pendias, 2011).

Na saúde humana, o arsénio pode causar toxicidade aguda (resultante de doses elevadas cujos efeitos ocorrem em tempos curtos) e toxicidade crónica, que é resultante da exposição a longo prazo ao arsénio inorgânico, principalmente por meio de água potável e alimentos. Os efeitos da toxicidade crónica, que podem levar anos para se desenvolver dependendo do nível de exposição, incluem lesões de pele, neuropatia periférica, diabetes, doenças cardiovasculares e cancro (Mandal & Suzuki, 2002; Science Communication Unit, 2013; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).

2.2.3. Cádmio

Na tabela periódica o cádmio localiza-se no quinto período do grupo 12, é um metal de transição com uma densidade 8,6 g/cm³, sendo um elemento classificado como metal pesado.

As suas fontes naturais na atmosfera são a atividade vulcânica, a erosão de rochas sedimentares e fosfáticas e os incêndios florestais. Por sua vez, as fontes antropogénicas incluem as atividades de mineração, produção, consumo e disposição de produtos que utilizam cádmio (como as baterias de níquel-cádmio e o tabaco), pigmentos, estabilizadores de produtos de PVC, ligas de cádmio, componentes eletrónicos e fertilizantes fosfatados (Varennnes, 2003; Nagajyoti *et al.*, 2010; Kabata-Pendias, 2011; ATSDR, 2012a; Science Communication Unit, 2013).

No solo, o cádmio encontra-se essencialmente nas formas iónicas Cd¹⁺ e Cd²⁺. Estas são formas muito solúveis na solução do solo e por essa razão com grande biodisponibilidade podendo facilmente ser absorvidas pelas plantas. De uma forma geral a sua mobilidade é afetada por diversos fatores, tais como o pH, o potencial redox, a temperatura, a concentração de outros elementos e de matéria orgânica no solo. Este elemento é mais móvel em solos ácidos dentro da faixa de pH 4,5 a 5,5, com menor quantidade de argila e de matéria orgânica (Di Toppi & Gabbrielli, 1999; Kabata-Pendias, 2011; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2017). Outro fator que interfere na disponibilidade do cádmio para as plantas é a concentração de zinco no solo, que inibe a absorção de cálcio e impede que o cádmio se mova das raízes para os rebentos das plantas (Science Communication Unit, 2013). Em média, a sua concentração nos solos situa-se entre 0,06 e 1,1 mg/kg (Kabata-Pendias, 2011).

Embora o cádmio seja considerado um elemento não essencial nos processos metabólicos, é efetivamente absorvido pelos sistemas radicular e foliar, o que provoca efeitos nefastos nas plantas. As plantas com sintomas de fitotoxicidade provocada pela elevada concentração de cádmio apresentam clorose, necrose, inibição do crescimento, escurecimento das pontas das raízes e pode causar a sua morte (Kabata-Pendias, 2011).



A sua acumulação nas plantas é de especial preocupação, uma vez que se acumula essencialmente ao nível foliar, e por isso pode constituir elevado risco para os seres humanos e para os animais, através da alimentação (Nagajyoti *et al.*, 2010). É um dos elementos mais tóxicos para os seres humanos. O cádmio absorvido através da ingestão de alimentos pode causar problemas hepáticos e renais, e causar baixa densidade óssea. Dietas pobres em ferro e zinco aumentam enormemente os efeitos do cádmio na saúde. É considerado um elemento carcinogénico por inalação (Science Communication Unit, 2013; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).

Devido aos seus graves efeitos na saúde humana, em 2010, o Comité Conjunto de Especialistas FAO/ WHO sobre Aditivos Alimentares reavaliou e estabeleceu uma ingestão tolerável mensal provisória (PTMI, do inglês *Provisional Tolerable Monthly Intake*) de 25 µg/kg de peso corporal, o que reflete o longo tempo de meia-vida do cádmio nos seres humanos. As estimativas da exposição dietética média ao cádmio para adultos variaram de 2,2 a 12 µg/kg de peso corporal por mês, ou 9 a 48% do PTMI; para crianças europeias até aos 12 anos de idade, a exposição dietética média ao cádmio foi de 11,9 µg/kg de peso corporal por mês (47% do PTMI) (WHO, 2013). Em 2011, por sua vez, a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA), estabeleceu uma ingestão tolerável semanal provisória (PTWI) de 2,5 µg/kg de peso corporal, a fim de assegurar um elevado nível de proteção de todos os consumidores (EFSA, 2012).

2.2.4. Chumbo

O chumbo é um elemento químico pertencente ao sexto período do grupo 14 da tabela periódica, o grupo do carbono. Tem densidade 11,34 g/cm³, sendo um EPT classificado como um metal pesado.

O chumbo tornou-se um contaminante ambiental predominante, principalmente devido a atividades antrópicas, como a mineração, a fundição e o refinamento de gasolina com chumbo, e a produção de produtos contendo chumbo (por exemplo, baterias, fertilizantes e tintas) (Nagajyoti *et al.*, 2010; Kabata-Pendias, 2011; Science Communication Unit, 2013).

Nos solos este elemento encontra-se essencialmente no estado de oxidação Pb²⁺ e usualmente a sua concentração varia de 10 a 200 mg Pb/kg solo, mas a sua forte adsorção nos solos pode significar que as suas adições são permanentes e irreversíveis.

No entanto, apesar de ser um elemento com reduzida mobilidade, o teor de chumbo das raízes está correlacionado com o teor de chumbo no solo, o que indica a sua captação pelas plantas, podendo ocorrer acumulação. Certos fatores do solo (por exemplo, baixo pH, baixo teor de fósforo no solo, e ligandos orgânicos) e da planta são conhecidos por promoverem a absorção de chumbo pelas raízes e a sua translocação para as partes aéreas das plantas (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011).

Os efeitos tóxicos do chumbo, afetando vários órgãos, incluem desequilíbrio bioquímico no fígado, nos rins, no baço e nos pulmões. Outros efeitos são a deterioração óssea e a neurotoxicidade, esta última principalmente em lactentes e crianças (Science Communication Unit, 2013; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).



Em 1999, o Comité Conjunto de Especialistas FAO/ WHO sobre Aditivos Alimentares retirou a ingestão tolerável semanal provisória (PTWI) anterior de 50 µg/kg de peso corporal para adultos, e estendeu o PTWI de 25 µg/kg de peso corporal para todos os grupos etários. Mais recentemente, em 2011, o Comité concluiu, que o PTWI estabelecido não era seguro, e foi retirado. Como as análises de dose-resposta não forneceram qualquer indicação de um limiar para os principais efeitos do chumbo, o Comité concluiu que não foi possível estabelecer um novo PTWI que seria considerado seguro (WHO, 2011b).

2.2.5. Crómio

Na tabela periódica o Crómio encontra-se no quarto período do grupo 6 (metais de transição). Este elemento tem uma densidade 7,14 g/cm³ e, portanto, classifica-se como metal pesado.

A principal fonte natural de crómio nos solos são as rochas ultrabásicas (serpentinhas). No entanto, são as fontes antropogénicas as principais fontes de contaminação dos solos por crómio, principalmente crómio hexavalente, tais como a indústria de curtumes, lamas de Estações de Tratamento de Águas Residuais e ainda a queima de gás natural, petróleo ou carvão (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011; ATSDR, 2012b).

O teor de crómio nos solos pode ser vestigial ou superior a 3 g Cr/kg solo. Este elemento surge mais vulgarmente em dois estados de oxidação: Cr (VI) e Cr (III). No entanto o ião Cr³⁺, predomina na maior parte dos solos, é ligeiramente móvel apenas em meios muito ácidos, e a pH 5,5 está praticamente precipitado, pelo que os seus compostos são considerados muito estáveis nos solos. Por outro lado, o ião Cr⁶⁺ é muito instável nos solos e é facilmente mobilizado nos solos ácidos e alcalinos (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011).

O teor de crómio nas plantas é controlado principalmente pelo teor de crómio solúvel dos solos. A maioria dos solos contém quantidades significativas de crómio, mas a sua disponibilidade para as plantas é altamente limitada. No entanto, a adição de crómio no solo afeta o teor deste elemento nas plantas, e a sua taxa de absorção pelas plantas é dependente de vários fatores do solo e da planta. Normalmente, as plantas retêm este elemento ao nível da raiz, pelo que os seus efeitos na alimentação são raros (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011). O stress abiótico causado por este elemento é um dos fatores que afetam a fotossíntese, em termos de fixação de CO₂, do transporte de eletrões, fotofosforilação e das atividades enzimáticas. Deste modo, os sintomas fitotóxicos mais observáveis nas plantas são cloroses nas folhas, e algumas alterações nas raízes (Nagajyoti *et al.*, 2010; Kabata-Pendias, 2011).

Nos humanos, o Cr (III) é um nutriente essencial que desempenha um papel no metabolismo da glicose, visto que potencializa a ação da insulina. No entanto, o Cr (VI) é um elemento carcinogénico, principalmente por inalação. Embora o cancro pulmonar tenha sido estabelecido como consequência da exposição ao crómio hexavalente, outros cancros como gastrointestinais e do sistema nervoso central também já foram observados. Além destes problemas, também há registo de problemas respiratórios, úlceras e até mesmo anemia (Costa & Klein, 2006; ATSDR, 2012b).



2.2.6. Elementos Essenciais

A definição de um elemento como essencial baseia-se em três critérios principais, definidos por Arnon e Stout, em 1939. São estes:

- Quando o elemento está ausente na planta, esta não consegue completar alguma etapa do seu ciclo biológico;
- A especificidade das funções do elemento na planta, não sendo possível substituir por outro elemento;
- No metabolismo da planta este está diretamente envolvido, quer por fazer parte de uma molécula orgânica quer por ser necessário a alguma etapa do metabolismo, por exemplo uma reação enzimática.

Os elementos essenciais são classificados essencialmente como macronutrientes e micronutrientes, dependendo das suas concentrações nos tecidos das plantas. São definidos como macronutrientes os elementos minerais presentes em maiores concentrações, por necessidade das plantas, como por exemplo, o azoto, o potássio, o cálcio e o magnésio (Varennnes, 2003).

Alguns metais, incluindo cobre, ferro, manganês, cobalto e zinco são essenciais para o metabolismo das plantas em quantidades vestigiais, e por este motivo considerados micronutrientes. No entanto, estes elementos quando absorvidos em excesso podem provocar diversos efeitos tóxicos nas plantas, causando assim fitotoxicidade (Kabata-Pendias, 2011).

As duas principais funções destes elementos nas reações bioquímicas são a participação nas reações redox, e a sua participação direta como parte integrante de várias enzimas, e ainda controlam a permeabilidade das membranas e o potencial eletroquímico (Varennnes, 2003; Nagajyoti *et al.*, 2010).

2.2.6.1. Cobre

O cobre encontra-se no quarto período do grupo 11 da tabela periódica, sendo assim classificado como metal de transição, com uma densidade de 8,96 g/cm³, sendo, portanto, um EPT classificado como metal pesado.

O cobre é um micronutriente essencial às plantas, que apresenta essencialmente quatro estados de oxidação, Cu⁺, Cu²⁺, Cu³⁺ e Cu⁴⁺, que são solúveis na solução do solo, sendo os dois primeiros estados os mais usuais (Varennnes, 2003).

Embora também proveniente do material rochoso, a principal origem dos elevados teores de cobre no solo, advém da aplicação continuada de fungicidas compostos por cobre, da aplicação no solo de efluentes de suinicultura e avicultura, e até mesmo da aplicação de lamas de esgoto. As atividades industriais contribuem também para a emissão de elevadas quantidades de cobre, como é o caso da mineração e metalurgia (Varennnes, 2003; Nagajyoti *et al.*, 2010; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).

No solo, o seu teor varia entre 1 e 60 mg Cu/kg, podendo ser muito superior em casos de contaminação. O cobre está presente na estrutura de vários minerais, onde substitui o magnésio, o ferro e o manganésio. Pode também se encontrar adsorvido quimicamente nos colóides minerais do solo. Em solos com baixo pH (solos ácidos) a sua toxidade é mais notável devido à sua maior disponibilidade (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011). Devido à sua elevada capacidade de troca



catiônica, os solos de textura fina têm maior quantidade de cobre à disposição das plantas, do que solos de textura grosseira (Varennnes, 2003).

Este elemento está envolvido em processos de oxidação, na fotossíntese, no metabolismo de proteínas e glúcidos, nas alterações de valência, e também no metabolismo da parede celular (Nagajyoti *et al.*, 2010; Kabata-Pendias, 2011; Singh & Jwa, 2013). A sua concentração normal nas plantas varia entre 5 e 20 mg Cu/kg MS, sendo a sua deficiência rara tendo em conta que as necessidades das plantas são facilmente satisfeitas (Varennnes, 2003).

Embora os efeitos negativos do cobre na saúde humana sejam raros, podem existir efeitos tóxicos graves especialmente em crianças se a exposição for prolongada (Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).

2.2.6.2. Ferro

O Ferro é um elemento químico do grupo 8 (metais de transição) que pertence ao quarto período da tabela periódica. Enquadra-se na definição de metal pesado uma vez que a sua densidade é 7,874 g/cm³.

Este elemento tem origem natural na meteorização de silicatos ferromagnesianos, sendo um dos elementos mais abundantes na litosfera. No entanto, também provém de fontes antropogénicas, tais como minas de carvão, indústria química, incineração de resíduos e ainda o uso de pesticidas na agricultura (Varennnes, 2003; Nagajyoti *et al.*, 2010; Kabata-Pendias, 2011).

Nos solos, o ferro ocorre principalmente nas formas de óxidos e hidróxidos ou então associado à superfície de outros minerais. No entanto, em solos ricos em matéria orgânica, o ferro surge principalmente na forma de quelatos, devido à sua forte afinidade com ligandos orgânicos (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011). O teor deste elemento nos solos varia entre 0,2 g Fe/kg solo em solos arenosos (com intensa lixiviação) até mais de 300 g Fe/kg solo (Varennnes, 2003).

Este elemento muda facilmente o seu estado de oxidação, podendo receber ou doar eletrões. A retenção e disponibilidade de ferro nos solos depende de diversos fatores, tais como: a textura – em solos com textura fina contêm mais ferro adsorvido; o teor de matéria orgânica – elevados teores de MO no solo impedem a precipitação de ferro; e o pH – em solos alcalinos a solubilidade do ferro diminui (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011).

O ferro, como elemento essencial para todas as plantas, tem muitos papéis biológicos importantes em processos tão diversos como a fotossíntese, o desenvolvimento dos cloroplastos e a biossíntese de clorofila (Nagajyoti *et al.*, 2010). O seu teor normal nas plantas varia entre 50 e 250 mg Fe/kg MS (Varennnes, 2003).

Uma absorção excessiva de ferro pode produzir efeitos tóxicos nas plantas. Estes efeitos são mais prováveis de ocorrer em solos fortemente ácidos e em solos inundados. No entanto, as plantas adaptadas a condições de alagamento são geralmente mais tolerantes a níveis elevados de ferro do que plantas cultivadas em solos arejados (Kabata-Pendias, 2011). O aparecimento de toxicidade por ferro em plantas está relacionado à alta absorção de Fe²⁺ pelas raízes e o seu transporte para as folhas, provocando, assim, a produção de radicais livres que danificam irreversivelmente as membranas



celulares e degradam proteínas, o que confere fisiologicamente às folhas um tom acastanhado/acinzentado (Varennnes, 2003; Nagajyoti *et al.*, 2010).

Nos humanos, o ferro é um elemento essencial que possui importantes funções metabólicas, incluindo o transporte e armazenamento de oxigênio, assim como participa em muitas reações redox. Uma dose oral de 60 mg de Fe/kg de peso corporal pode ser letal, mas doses orais abaixo de cerca de 10-20 mg de Fe/kg de peso corporal não causam toxicidade aguda. No entanto, o risco de efeitos adversos da sobredosagem de ferro na população geral é considerado baixo (EFSA, 2006).

2.2.6.3. Manganês

O manganês é um elemento de transição, pois localiza-se no grupo 7, quarto período da tabela periódica. Tem uma densidade 7,47 g/cm³, permitindo considerá-lo um metal pesado. O manganês é um nutriente essencial para microrganismos, plantas e animais.

O manganês é um elemento que ocorre naturalmente nas rochas, no solo e na água, principalmente através da ocorrência de atividade vulcânica, incêndios florestais e erosão do material rochoso. As suas principais fontes antropogénicas incluem descargas de efluentes, lamas de ETAR, mineração, emissões da produção de ligas de aço e ferro, e ainda a combustão de combustíveis fósseis (Howe *et al.*, 2004).

No solo, o seu teor usual varia entre 20 e 3000 mg Mn/kg solo. A sua solubilidade é determinada por duas variáveis principais: pH e potencial redox. A solubilidade deste elemento depende do pH, sendo uma deficiência vulgar em solos alcalinos. E em solos ácidos poderá ocorrer uma grande quantidade de ião Mn²⁺ livre (Varennnes, 2003; Howe *et al.*, 2004; Kabata-Pendias, 2011). Os solos com textura fina são mais ricos neste elemento, uma vez que adsorvem o nutriente e possuem maior capacidade de troca catiónica. A redução deste elemento é favorecida em solos ácidos e com baixos potenciais redox, sendo a toxicidade do manganês vulgar em solos ácidos ou alagados (Varennnes, 2003).

Nas plantas o seu teor normal varia entre 20 e 500 mg Mn/kg MS. O ião Mn²⁺ predomina nas plantas e é facilmente oxidado a Mn³⁺ e Mn⁴⁺. Este elemento participa em diversas reações redox que ocorrem nas células, e ainda ativa enzimas envolvidas nas reações de descarboxilação (Varennnes, 2003). Os sintomas de toxicidade de manganês nas plantas variam amplamente com as espécies, mas resumem-se essencialmente em clorose foliar, lesões necróticas e desenvolvimento distorcido das folhas (Howe *et al.*, 2004; Nagajyoti *et al.*, 2010).

Embora níveis baixos de ingestão de manganês sejam necessários para a saúde humana, altos níveis deste elemento são tóxicos, provocando diversos problemas neurológicos (ATSDR, 2012c).

2.2.6.4. Zinco

O zinco localiza-se no quarto período do grupo 12 da tabela periódica, e é também considerado um metal de transição, com densidade 7,14 g/cm³ e que se enquadra na definição de EPT.

Tem origem natural, no material rochoso, no entanto, as suas maiores fontes são antropogénicas, tais como a indústria metalúrgica e a agricultura (Kabata-Pendias, 2011).



É um micronutriente essencial às plantas sendo necessário para manter a integridade dos ribossomos. Participa ainda na formação de glúcidos e catalisa os processos de oxidação nas plantas. Fornece também um papel estrutural em muitos fatores de transcrição e é um cofator da RNA polimerase (Nagajyoti *et al.*, 2010). A concentração usual de zinco nas plantas varia entre 25 e 150 mg Zn/kg MS. A deficiência de zinco pode surgir tanto em solos arenosos sujeitos a intensa lixiviação como em solos calcários, ricos em matéria orgânica (Varennnes, 2003).

No solo, o seu teor é essencialmente entre 50 e 300 mg Zn/kg solo, na maioria dos solos. Mais de 90% do zinco encontra-se na estrutura de minerais primários e secundários. Nos solos ácidos encontra-se essencialmente na forma iónica livre Zn^{2+} e em solos mais alcalinos encontra-se nas formas iónicas $Zn(OH)^+$, $Zn(HCO_3)^+$ e ainda $ZnCO_3^0$. Em solos de textura fina, com elevada capacidade catiónica e matéria orgânica, o teor de zinco mantém-se mais elevado, e mais disponível para as plantas. Em solos alagados, o zinco adsorvido a oxi-hidróxidos de ferro e de manganésio é libertado devido à redução dos dois elementos (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011). A maioria dos solos em culturas de arroz possui baixo teor de zinco disponível para as plantas, resultando em perda de rendimento na cultura e grãos com conteúdo abaixo do ideal para nutrição humana (Rehman *et al.*, 2012).

O efeito do zinco na saúde humana está associado a anemia e lesões teciduais (Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018).



2.2.7. Disponibilidade de EPT na cultura de arroz

Devido ao crescente desenvolvimento industrial, a contaminação de arroz por EPT aumentou, com um impacto adverso em toda a cadeia alimentar e, subsequentemente, na saúde humana (Mao *et al.*, 2019).

O alagamento do arrozal afeta a química do solo, e, portanto, a disponibilidade e a absorção destes elementos pela planta (Norton, 2019).

Quando as plantas sofrem deficiência ou toxicidade de um elemento ou substância, surgem diversos sintomas, quer ao nível do crescimento da planta, do número de perfilhos, quer no aspeto das folhas e das raízes. A mobilidade dos nutrientes dentro da planta e a posição da folha na qual os sintomas de deficiência aparecem estão inter-relacionados. Para um nutriente cuja mobilidade é baixa, os sintomas normalmente aparecem nas folhas superiores porque o nutriente não se move das folhas inferiores para as superiores, onde é necessário para o crescimento ativo. Por outro lado, quando um nutriente é móvel, os sintomas normalmente aparecem nas folhas inferiores. As folhas inferiores sofrem deficiência de nutrientes porque o nutriente é translocado no sentido ascendente (Yoshida *et al.*, 1976).

Nesta cultura, o arsénio está presente principalmente como As (III) e é dissolvido na solução do solo, estando assim mais disponível para as plantas (Brammer & Ravenscroft, 2009). A acumulação relativamente alta deste elemento no arroz deve-se a duas razões: (a) maior biodisponibilidade do arsénio sob as condições anaeróbicas de solos alagados e (b) captação e transporte inadvertidos de arsenito (As (III)) pela via do silício, que é altamente eficiente no arroz (Zhao *et al.*, 2010). Este elemento acumula-se em diferentes proporções na planta, sendo a maior concentração na raiz e a menor no grão. A sua concentração elevada está associada a diversos sintomas, tais como: emergência tardia, redução do crescimento e reduzido afilhamento, ao emurchecimento das folhas e ao aparecimento de necroses nas folhas mais velhas, assim como à redução no rendimento dos grãos (Varennnes, 2003; Brammer & Ravenscroft, 2009).

Por sua vez, a mobilidade do cádmio no solo alagado é reduzida devido à formação de sulfureto de cádmio (CdS), pouco solúvel na solução do solo (Varennnes, 2003). Por outro lado, durante o período de drenagem, o solo está numa condição oxidativa, com aumento do potencial redox, ocorrendo a formação de sulfato de cádmio (CdSO₄), muito solúvel na solução do solo, o que provoca uma maior disponibilidade de cádmio para a planta. Portanto, a gestão da rega na cultura pode ser utilizada como uma estratégia para controlar a absorção de cádmio pelo arroz, uma vez que pode ser afetado pelo potencial redox do solo (Li *et al.*, 2017). A toxicidade por cádmio nesta planta causa uma redução severa no crescimento das raízes, no número de colmos e de inflorescências, assim como causa efeitos no sistema fotossintético (Kabata-Pendias, 2011; Fahad *et al.*, 2019).

Nas condições redutoras desta cultura, o chumbo tem mobilidade reduzida devido à formação de sulfureto de chumbo (PbS), ficando assim menos disponível para absorção pelas plantas de arroz (Varennnes, 2003). A toxicidade por chumbo leva a alterações bioquímicas e fisiológicas, resultando em comprometimento do crescimento e redução da produção de arroz (Ashraf *et al.*, 2015). No entanto, diferentes genótipos de arroz mostram características de absorção e translocação diferentes. Alguns



genótipos de arroz (tolerantes ao chumbo) preferem as raízes como principal órgão de armazenamento deste elemento e apenas alguma concentração é translocada para a parte aérea, enquanto outros genótipos acumulam mais na parte aérea (sensíveis ao chumbo) do que nas raízes (Fahad *et al.*, 2019).

O pH do solo influencia fortemente a biodisponibilidade do cobre, que é mais alta à medida que o pH do solo diminui, no entanto, a sua biodisponibilidade diminui quando a capacidade de troca catiónica ou quando o nível de matéria orgânica do solo aumenta. A sua toxicidade é essencialmente observada em solos ácidos e é mais provável que ocorra com baixo pH do solo e para solos que exibem uma pequena capacidade de troca catiónica (Brun *et al.*, 1998). O excesso de cobre pode ser extremamente tóxico para a planta de arroz, pouco tolerante a elevadas concentrações deste elemento, causando sintomas como clorose, necrose e inibição do crescimento da raiz e da parte aérea. Ao nível celular, o excesso de cobre pode inativar e perturbar a estrutura das proteínas (Yruela, 2009; Fahad *et al.*, 2019).

O potencial redox do solo pode influenciar a distribuição de crómio entre as formas Cr (VI) e Cr (III). Em solos inundados, como é o caso da cultura de arroz, ocorre a redução de Cr (VI) e, portanto, diminui a sua solubilidade (Liu *et al.*, 2007). O crómio em excesso interfere em vários processos metabólicos, causando toxicidade para as plantas de arroz, de salientar o crescimento radicular reduzido, clorose, comprometimento do sistema fotossintético, redução do crescimento das plantas e, também, a sua possível morte (Bhattacharyya *et al.*, 2005).

Nas condições praticadas nesta cultura, o ferro na solução do solo sofre uma redução de Fe^{3+} para Fe^{2+} e há um aumento na solubilidade de ferro (Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011). O ferro em excesso na planta provoca folhagem verde-escura, crescimento atrofiado da parte aérea e raízes, além disso, em casos mais graves, causa um tom acastanhado às folhas (doença designada por *bronzing*) (Yoshida *et al.*, 1976; Kabata-Pendias, 2011).

A concentração de manganês na solução do solo aumenta após a submersão do solo nesta cultura, uma vez que a redução do manganês é favorecida nestas condições. Esse aumento na disponibilidade de manganês é benéfico para o arroz a pH quase neutro (Yoshida *et al.*, 1976). Os sintomas de toxicidade associados ao manganês manifestam-se na planta de arroz pelo perfilhamento atrofiado ou limitado, assim como pelo aparecimento de manchas castanhas nas folhas inferiores (Yoshida *et al.*, 1976).

A biodisponibilidade do zinco é função dos fatores do solo e da planta que podem ser alterados pela gestão da rega, particularmente em relação às condições na rizosfera (Gao *et al.*, 2011). Os principais fatores da baixa disponibilidade de zinco na cultura de arroz são o elevado pH do solo e o alto teor de carbonato, além do baixo potencial redox (Rehman *et al.*, 2012). O excesso de zinco na planta de arroz provoca a morte das plântulas cerca de 10 dias após a sua germinação (Fahad *et al.*, 2019).

A contaminação e acumulação de EPT, principalmente metais pesados, na água, no solo e no ar tornou-se um grave problema ambiental e afeta bastante o crescimento e a qualidade do arroz. Os metais pesados acumulados no arroz são tóxicos para o crescimento, metabolismo e desenvolvimento das plantas. Assim, a transferência destes elementos do solo para as plantas de valor agrícola



comercial, como o arroz, é motivo de grande preocupação, pois pode levar à biomagnificação via cadeia alimentar, causando vários efeitos prejudiciais ao consumidor (Mani & Sankaranarayanan, 2018).

2.2.8. Enquadramento Legislativo

Devido aos seus efeitos na saúde humana foram estabelecidos valores limites de EPT no solo, na água de rega e na alimentação.

A legislação portuguesa para a concentração de metais pesados em águas de rega estabelece-se por via do Decreto-Lei nº 236/98 de 1 de agosto e no solo pelo Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro.

Segundo o Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho, os valores máximos admissíveis para os metais pesados presentes na matéria fertilizante com componentes orgânicos está dependente da sua aplicação nos solos, estando assim dividida em quatro classes (**Quadro 3**).

Quadro 3 - Valores máximos admissíveis para os teores «totais» de metais pesados na matéria fertilizante com componentes orgânicos, por classe (mg/ kg MS).

Parâmetro	Matéria Fertilizante			
	Classe I	Classe II	Classe II A	Classe III
Cádmio	0,7	1,5	3	5
Chumbo	100	150	300	500
Cobre	100	200	400	600
Crómio	100	150	300	400
Zinco	200	500	1000	1500

Nota: Classe I e II – Agricultura; Classe IIA - Culturas agrícolas arbóreas e arbustivas nomeadamente pomares, olivais e vinhas. Espécies silvícolas; Classe III - Solo onde não se pretenda implantar culturas destinadas à alimentação humana e animal.

De referir, que para a concentração de arsénio no solo a Agência Portuguesa do Ambiente baseia-se nas Normas de Ontário, publicadas no documento *Soil, Ground Water and Sediment Standards for Use Under Part XV.1 of the Environment Protection Act. Government of Ontario*, Ministry of the Environment, 2011 (APA, 2019).

Por sua vez, a Comissão Europeia estabeleceu níveis máximos para o arsénio inorgânico no arroz e vários produtos de arroz no seu Regulamento (UE) 2015/1006, que altera o Regulamento (CE) n.º 1881/2006, no que diz respeito aos teores máximos de arsénio inorgânico nos géneros alimentícios. Os teores máximos dos restantes elementos presentes nos géneros alimentícios estão fixados no Regulamento (CE) Nº 1881/2006, da Comissão de 19 de dezembro de 2006.

Nos **Quadros 4 e 5** é possível ver o valor máximo admissível (VMA), o valor máximo recomendado (VMR), o valor de referência (VR) e o Limite Máximo (LM) para os elementos em estudo.

ENQUADRAMENTO TEÓRICO

Avaliação e caracterização da presença de EPT em *Oryza sativa* L.



Quadro 4 - Limites admissíveis dos principais EPT em estudo, de acordo com a legislação em vigor.

	Teor de Arsénio	Teor de Cádmio	Teor de Chumbo	Teor de Crómio
Águas de rega	VMA: 10 mg/L Toxicidade variável consoante as culturas, oscilando entre 12 mg/L para a erva-do-sudão e 0,05 mg/L para o arroz.	VMA: 0,05 mg/L Tóxico para o feijoeiro, beterraba e nabo em concentrações da ordem dos 0,1 mg/L em soluções nutritivas.	VMA: 20 mg/L As concentrações muito elevadas podem inibir o desenvolvimento celular das culturas.	VMA: 20 mg/L VMR: 0,10 mg/L Por se desconhecer o seu efeito tóxico, recomendam-se limites mais restritivos.
Solo	VR: 11 mg/kg MS para solos de uso agrícola.	LM: 1 mg/kg MS (pH ≤ 5,5) LM: 3 mg/kg MS (5,5 < pH ≤ 7) LM: 4 mg/kg MS (pH > 7)	LM: 50 mg/kg MS (pH ≤ 5,5) LM: 300 mg/kg MS (5,5 < pH ≤ 7) LM: 450 mg/kg MS (pH > 7)	LM: 50 mg/kg MS (pH ≤ 5,5) LM: 200 mg/kg MS (5,5 < pH ≤ 7) LM: 300 mg/kg MS (pH > 7)
Géneros alimentícios	LM: 0,20 mg/kg PF para arroz não parboilizado (branco ou polido). LM: 0,25 mg/kg PF para arroz vaporizado e arroz descascado.	LM: 0,20 mg/kg PF para sêmea, gérmen, trigo e arroz.	LM: 0,20 mg/kg PF para os cereais.	

ENQUADRAMENTO TEÓRICO

Avaliação e caracterização da presença de EPT em *Oryza sativa* L.



Quadro 5 - Limites admissíveis dos elementos essenciais em estudo, de acordo com a legislação em vigor.

	Teor de Cobre	Teor de Ferro	Teor de Manganês	Teor de Zinco
Águas de rega	VMA: 5,0 mg/L VMR: 0,20 mg/L Tóxico em soluções nutritivas com concentrações entre 0,1 mg/L e 1 mg/L para diversas culturas.	VMR: 5,0 mg/L Não tóxico em solos bem arejados, mas pode contribuir para a acidificação do solo, tornando indisponível o fósforo e o molibdénio.	VMA: 10 mg/L VMR: 0,20 mg/L Tóxico para um certo número de culturas desde algumas décimas até poucos mg/L, mas normalmente só em solos ácidos.	VMA: 10 mg/L VMR: 2,0 mg/L Tóxico para diversas culturas numa gama ampla, toxicidade reduzida a pH>6 e solos de textura fina ou de solos orgânicos.
Solo	LM: 50 mg/kg MS (pH ≤ 5,5) LM: 100 mg/kg MS (5,5 < pH ≤ 7) LM: 200 mg/kg MS (pH > 7)			LM: 150 mg/kg MS (pH ≤ 5,5) LM: 300 mg/kg MS (5,5 < pH ≤ 7) LM: 450 mg/kg MS (pH > 7)



2.3. O Solo

O solo é fundamental para a sustentabilidade da vida na Terra, pois constitui a base para o desenvolvimento agrícola, para as funções essenciais dos ecossistemas e segurança alimentar. À escala humana é um recurso não renovável que tem vindo a ser sujeito a crescentes pressões e sobre-exploração, induzindo à sua degradação.

O conceito de solo tem sido modificado desde o ano de 1800, sendo registadas aproximadamente 81 definições distintas em livros, manuais, glossários e dicionários, evidenciando a necessidade de uma classificação universal (Hartemink, 2016).

De acordo com a FAO, o solo é definido como um corpo natural constituído por camadas (horizontes do solo) compostas por materiais minerais deteriorados pelo tempo, material orgânico, ar e água. O solo é o produto final da influência combinada do clima, topografia, organismos (flora, fauna e humanos) nos materiais originais (rochas e minerais originais) ao longo do tempo. Como resultado, o solo difere do seu material de origem na textura, estrutura, consistência, cor, características químicas, biológicas e físicas (FAO, 2019).

Desta forma, é um facto que ao longo do tempo diferentes fatores dão origem a solos com características específicas. Estes fatores como o clima, o relevo e os organismos (incluindo o Homem) provocam alterações físico-químicas e biológicas no material geológico original.

2.3.1. Componentes e propriedades do solo

Para descrever o solo, os pedólogos usam conceitos diferentes, como componentes do solo e propriedades do solo. Um componente do solo é uma espécie biogeoquímica (por exemplo, o ião nitrato NO_3^-) ou uma agregação de espécies biogeoquímicas (por exemplo, a argila) que formam os solos. Existem quatro categorias principais de componentes do solo: minerais, orgânicos (sendo estes dois componentes a matriz do solo), líquidos (solução do solo) e gasosos (atmosfera do solo) (Varennnes, 2003; Dominati *et al.*, 2010). Temos assim quatro principais componentes do solo: matéria orgânica, minerais, água e ar.

Os solos podem ser classificados em solos minerais ou solos orgânicos, consoante a percentagem de matéria orgânica.

A matéria orgânica (MO) do solo compreende a biomassa viva constituída por plantas e animais, incluindo microrganismos (fungos e bactérias); os resíduos vegetais em decomposição; e ainda uma mistura amorfa e complexa de substâncias orgânicas com dimensões coloidais, o húmus. O húmus é o principal responsável pela estabilidade do solo, devido à agregação de argilas, aumentando assim a capacidade de retenção de água e nutrientes do solo. A matéria orgânica representa geralmente 1 a 6% da massa total da camada arável de um solo mineral, e influencia as suas propriedades físicas e químicas, sendo um fator importante para a qualidade e resiliência do solo (Varennnes, 2003).



A composição volumétrica de um solo mineral adequado ao crescimento vegetal está representada na **Figura 5**.

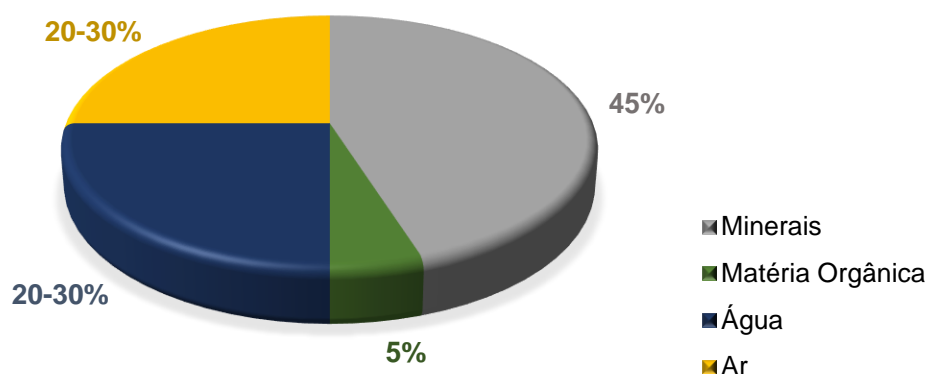


Figura 5 - Composição volumétrica de um solo mineral adequado ao crescimento vegetal.
(Adaptado de Varennes, 2003)

Por sua vez, as propriedades do solo são as características físicas, químicas e biológicas de um solo (Dominati *et al.*, 2010).

2.3.1.1. Propriedades físicas

As propriedades físicas estão principalmente relacionadas com o arranjo físico das partículas sólidas e os poros, por exemplo, a textura e cor do solo, a sua densidade e porosidade, entre outros (Nortcliff, 2002).

A textura consiste na proporção de partículas de diferentes dimensões na terra fina, ou seja, na fração do solo usada para análise de terras. A terra fina inclui partículas com diâmetro inferior a 2 mm, tais como, a areia, o limo e a argila. É uma das principais responsáveis pelas propriedades químicas do solo, pois interfere no poder tampão do solo (resistência à variação de pH) e na sua capacidade de retenção de nutrientes.

A terra fina pode ser classificada, de acordo com a escala de Atterberg, em:

- Areia: partículas com diâmetros entre 2,0 e 0,02 mm, que se subdivide em areia fina (0,2 – 0,02 mm) e areia grossa (2,0 – 0,2 mm).
- Limos: partículas com diâmetro entre 0,02 e 0,002 mm.
- Argila: partículas com diâmetros inferiores a 0,002 mm.

As partículas de areia devido à sua dimensão facilitam a drenagem rápida e o bom arejamento do solo. No entanto têm um poder de retenção de água e nutrientes muito baixo, ao contrário da argila, o que significa que quanto menor forem as partículas maior será a sua superfície específica (razão entre a sua área e massa), o seu poder de adsorção, a sua adesividade e a sua plasticidade. Os solos argilosos são normalmente mais ricos em matéria orgânica, devido à interação da argila com as



moléculas orgânicas, retardando a sua degradação pelos organismos e preservando-a durante mais tempo. O teor de argila no solo define diversas propriedades físicas (adesividade e plasticidade), assim como propriedades químicas do solo, devido à sua carga (normalmente negativa) que atrai nutrientes e moléculas de água (Varennnes, 2003).

Através da textura o solo pode ser classificado em diferentes classes de textura de acordo com a escala de Atterberg (**Figura 6**). Se o solo for predominantemente constituído por areia este tem textura grosseira, designando-se por arenoso, areno-franco ou franco-arenoso. Se for maioritariamente constituído por argila, tem textura fina, e designa-se por argiloso, franco-argiloso, franco-argilo-limoso, argilo-arenoso ou argilo-limoso. Por sua vez, os solos de textura mediana, são classificados como limosos, francos, franco-limosos ou franco-argilo-arenosos, sendo estes considerados os mais adequados à produção agrícola, devido essencialmente ao facto de terem maior capacidade de retenção de água e nutrientes que os solos de textura grosseira, assim como um maior arejamento e facilidade de mobilização do que os solos de textura fina (Varennnes, 2003).

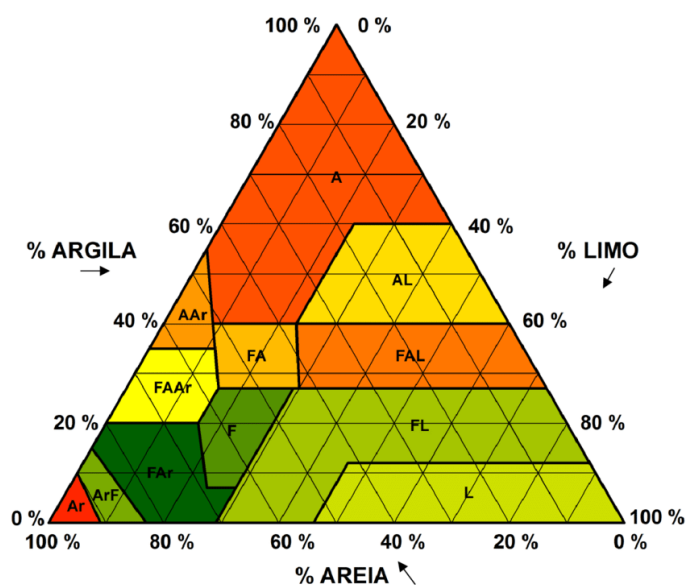


Figura 6 - Diagrama triangular da textura do solo de Gomes e Silva (1962).

A classe de textura de um determinado solo obtida através da interseção, no triângulo, das respetivas proporções de areia, limo e argila, no sentido das setas apresentadas (INIAV, 2016).

A longo prazo a textura do solo pode alterar devido aos processos de pedogénese, no entanto se a gestão do uso do solo for a adequada, a curto prazo, a textura do solo não sofre modificações. De salientar, que a erosão por si só, arrasta as partículas mais pequenas do solo permanecendo os materiais mais grosseiros no solo.

A estrutura do solo, ou seja, o arranjo das partículas do solo, influencia a porosidade do solo. A porosidade, por sua vez, afeta a mobilidade da água e do ar no solo, e por isso é uma característica importante a estudar nos solos.

Normalmente associa-se a estrutura do solo à formação de agregados e a sua presença pode afetar a densidade aparente e a porosidade do solo (Varennnes, 2003).

A densidade aparente do solo, mais corretamente designada massa volúmica aparente, define-se como a massa de solo seco por unidade de volume de solo (matriz + poros). Este parâmetro é sempre inferior à massa volúmica das partículas minerais, quanto maior o volume de poros (porosidade) ou o teor de matéria orgânica, menor é a densidade aparente do solo. Os solos de textura grosseira têm uma densidade aparente superior aos solos de textura fina, o que significa que têm menos porosidade. Os solos de textura fina têm maior tendência a formar agregados, e por isso, têm mais poros dentro e fora dos agregados. Por sua vez, os solos de textura grosseira têm menos tendência a formar agregados, e normalmente têm baixas concentrações de matéria orgânica (Varennnes, 2003).

A densidade aparente é normalmente expressa em megagramas por metro cúbico (Mg/m^3), mas também são utilizadas as unidades numericamente equivalentes de g/cm^3 e t/m^3 ($1 \text{ Mg/m}^3 = 1 \text{ g/cm}^3 = 1 \text{ t/m}^3$) (Cresswell & Hamilton, 2002).

Este parâmetro é importante para a descrição da qualidade do solo e da função do ecossistema. Geralmente, elevados valores de densidade aparente (acima de $1,3 \text{ Mg/m}^3$) indicam um ambiente mais pobre para o crescimento das raízes, redução da aeração do solo e mudanças indesejáveis na função hidrológica, como a redução da infiltração da água (Jahn *et al.*, 2006).

No **Quadro 6** é possível ver as densidades aparentes mais comuns de alguns tipos de solos.

Quadro 6 - Densidade aparente de alguns tipos de solo.

(Varennnes, 2003)

Tipo de solo e textura	Densidade aparente (Mg/m^3)
Histossolo (solo orgânico)	0,1 – 0,7
Solos não cultivados (floresta ou pastagem)	0,8 – 1,2
Solos cultivados de textura fina	0,9 – 1,4
Solos cultivados de textura grosseira	1,2 – 1,6
Vertissolo quando seco (solo argiloso)	1,6 – 1,9

2.3.1.2. Propriedades químicas

As propriedades químicas estão associadas, tal como o nome indica à composição química do solo, por exemplo, a disponibilidade de nutrientes no solo, o seu pH, a salinidade, e as concentrações de elementos potencialmente tóxicos (Nortcliff, 2002). O pH do solo é de particular importância porque além de afetar muitos processos do solo, afeta a mobilidade dos elementos, por exemplo, os catiões de elementos potencialmente tóxicos são mais móveis em solos ácidos, isso significa que ficam mais disponíveis para absorção pelas plantas ou para infiltração em aquíferos (Science Communication Unit, 2013).

Nos solos calcários o pH é usualmente superior a 7 e a disponibilidade de elementos como fósforo, ferro e zinco é baixa, levando às correspondentes deficiências. Já os solos ricos em sódio têm um pH alto e elevadas concentrações de sais solúveis totais. As plantas nesses solos frequentemente



sofrem de um problema de salinidade e às vezes de deficiência de ferro e toxicidade de boro. Em solos neutros, a disponibilidade de nutrientes é apenas adequada e é improvável que ocorram deficiências ou excessos de nutrientes. No entanto, se um solo é baixo em algum nutriente essencial, as plantas podem sofrer de deficiências nutricionais (Yoshida *et al.*, 1976).

Um dos indicadores da salinidade do solo é a condutividade elétrica (CE), que está relacionada com a totalidade dos sais existentes no solo ou na solução do solo. A condutividade elétrica dos solos varia dependendo da quantidade de humidade retida pelas partículas do solo. Consequentemente, a CE correlaciona-se fortemente com o tamanho e a textura das partículas do solo. Além dos valores de CE que separam as variações na textura do solo, a CE mostrou estar intimamente relacionada com outras propriedades do solo usadas para determinar a produtividade de um campo, tais como a capacidade de retenção de água/ de drenagem, capacidade de troca catiónica (CTC) e a porosidade (Grisso *et al.*, 2009). No **Quadro 7**, encontram-se as diferentes classes de salinidade de acordo com a CE da solução do solo.

Quadro 7 - Classes de salinidade dos solos e respetiva CE.

(adaptado de Soil Science Division Staff, 2017)

Classe de Salinidade	Condutividade Elétrica (dS/m)
Não salino	< 2
Muito levemente salino	2 a < 4
Levemente salino	4 a < 8
Moderadamente salino	8 a < 16
Extremamente salino	≥ 16

2.3.1.3. Propriedades biológicas

As propriedades biológicas podem ser muito dinâmicas e excecionalmente sensíveis a mudanças nas condições do solo, sendo estas maioritariamente dependentes da atividade dos microrganismos, na decomposição da matéria orgânica e no ciclo de nutrientes (Nortcliff, 2002).

As propriedades biológicas de um solo referem-se assim, a qualquer componente do solo que possa ser medido e usado para comparar ou avaliar os solos (Dominati *et al.*, 2010).

2.3.2. Degradação do solo

O solo é um recurso finito, o que significa que a sua perda e degradação não é recuperável à escala humana. Como componente principal dos recursos da terra, desenvolvimento agrícola e sustentabilidade ecológica, é a base para a produção de alimentos, rações, combustíveis e fibras e muitos serviços de ecossistemas (FAO, 2015). Os solos constituem também o maior reservatório de carbono orgânico da Terra e desempenham um papel fundamental na regulação do clima e na mitigação das mudanças climáticas, por meio de compensações entre a emissão de gases de efeito estufa e o sequestro de carbono (FAO, 2017a).



A área natural de solos produtivos é limitada e está sob crescente pressão para satisfazer as demandas do aumento populacional para a extração de alimentos, urbanização e produção de energia e matérias-primas. Esta pressão é um desafio global para a segurança alimentar e para a sustentabilidade dos ecossistemas (Adhikari, 2016; FAO, 2015).

A degradação do solo é definida como uma mudança no estado de saúde do solo, resultando na redução da capacidade do ecossistema em fornecer bens e serviços. Por sua vez, segundo a FAO, a saúde do solo é a capacidade contínua do solo de funcionar como um sistema vivo vital, dentro dos limites do ecossistema e do uso da terra, para sustentar a produtividade biológica, promover a qualidade dos ambientes aéreo e aquático, e manter, assim, a saúde de plantas, animais e seres humanos (FAO, 2015).

A degradação do solo é um problema global crítico e crescente, com implicações em muitas das áreas políticas principais, incluindo segurança alimentar, alterações climáticas, gestão do risco de inundação, tolerância à seca, qualidade da água potável, resiliência agrícola face às novas doenças das culturas, à biodiversidade e aos futuros recursos genéticos (Sustainable Food Trust, 2015).

Esta degradação ocorre através da deterioração das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Existem diferentes causas para a deterioração do solo, tais como:

- Impermeabilização, através da construção e instalação de infraestruturas;
- Compactação, por más práticas agrícolas ou florestais;
- Salinização ou acidificação, devido a uso excessivo de fertilizantes ou devido a intrusão salina em aquíferos e água de rega;
- Erosão, tanto eólica como hídrica;
- Contaminação e poluição, tais como metais pesados provenientes da fertilização de culturas agrícolas e de indústrias (Sustainable Food Trust, 2015; EEA, 2016).

Algumas destas causas podem ocorrer naturalmente, como, por exemplo, a erosão, no entanto a maioria tem origem antropogénica (indústria, mineração, agricultura, pecuária...).

No âmbito desta problemática, foram estabelecidas várias medidas para a conservação do solo. A salientar a nível internacional, a resolução da Assembleia Geral das Nações Unidas intitulada “Transformar o nosso mundo: a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável” (A/RES/70/1), assente em 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) e 169 metas a implementar por todos os países, a Agenda 2030 pressupõe a integração dos ODS nas políticas, processos e ações desenvolvidas nos planos nacional, regional e global. Destes 17 ODS, há 3 de enorme relevância para os solos: ODS 2, ODS 3 E ODS 15 (UNGA, 2015).

A FAO, em 2017, estabeleceu diretrizes de orientação voluntárias para a gestão sustentável do solo, encorajando os governos, entre outras medidas, a estabelecer e a implementar regulamentação que limite a acumulação de contaminantes a concentrações abaixo dos níveis definidos para proteger a saúde humana e o bem-estar das populações, e fomentar a remediação de solos que excedam esses níveis (FAO, 2017a).

A legislação europeia, por sua vez, procura também intervir em muitos destes problemas de degradação do solo, nomeadamente em domínios como a água, os resíduos, os produtos químicos, a



poluição industrial, a proteção da natureza ou os pesticidas. A União Europeia adotou a Estratégia Temática do Solo (COM (2006) 231) a 22 de setembro de 2006. Esta estratégia incide nas causas da degradação dos solos e salienta a necessidade de um ordenamento territorial sustentável, a fim de evitar que os solos percam a sua produtividade. Em 2015, foi constituído o *European Union Expert Group on Soil Protection* na sequência da retirada da proposta legislativa relativa a uma diretiva-quadro do solo (COM (2006) 232) em 2014 e conforme exigido pelo 7.º Programa de Ação em matéria de ambiente, a fim de refletir com os Estados-Membros sobre a forma de abordar as questões de qualidade do solo baseadas, de forma orientada e proporcional, no risco dentro de um quadro legal vinculativo. Existem também diversas diretivas europeias que de forma direta ou indireta contribuem para a proteção dos solos, entre elas a Diretiva Aterros, Diretiva-Quadro Resíduos, Diretiva Emissões Industriais ou a Diretiva Responsabilidade Ambiental (Frelh-Larsen *et al.*, 2016).

De encontro ao referido acima, quer a nível internacional quer a nível comunitário, existe legislação nacional associada ao uso sustentável do solo, tais como: o Regime geral da gestão de resíduos (RGGR – Decreto – Lei n.º 178/2006, na sua redação atual), prevê o licenciamento das operações de descontaminação dos solos, pelas autoridades regionais de resíduos, as CCDR; o Regime jurídico da responsabilidade por danos ambientais (RA – Decreto-Lei n.º 147/2008, na sua redação atual), define dano causado ao solo como qualquer contaminação do solo que crie um risco significativo para a saúde humana, avaliada através de um processo de análise de riscos; o Regime das emissões industriais (REI – Decreto-Lei n.º 127/2013, na sua redação atual), estabelece a obrigação do operador apresentar, como pedido de licenciamento ou autorização, um relatório de base que inclua informações que permitam determinar o estado de contaminação do solo e das águas subterrâneas, de modo a permitir estabelecer uma comparação quantitativa como estado do local após a cessação definitiva das atividades; o Regime da avaliação de impacto ambiental (AIA – Decreto-Lei n.º 151-B/2013, na sua redação atual), define que a descrição do estado do local e dos fatores ambientais suscetíveis de serem considerados afetados pelo projeto, nomeadamente o solo, devem constar do conteúdo mínimo do estudo de impacto ambiental.

No entanto, ainda há muitos estudos a decorrer no intuito de implementar medidas mais concretas de acordo com as problemáticas de degradação do solo, quer a nível nacional quer nível internacional.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliar a eventual ocorrência de contaminações por EPT presentes no solo e, na sequência dessa situação, a possibilidade de ocorrência de contaminações por EPT nas plantas, foram analisadas diferentes amostras de solo de uma região orizícola nacional e das plantas de arroz de variedades habitualmente produzidas nesses locais.

Neste capítulo serão descritas as metodologias utilizadas para o ensaio experimental deste projeto, designadamente, o estudo prévio de quantificação de EPT no solo e plantas do local a ser analisado, caracterização dos solos, a cultura de arroz e a avaliação dos níveis de EPT nas diferentes partes da planta (sementes, parte aérea e raízes).

3.1. Material em estudo

Previamente à realização dos ensaios que constituíram este trabalho, foi realizado um estudo prévio em que se consideraram quatro solos de diferentes proveniências referentes à mesma região orizícola nacional, designados por Agro (FT), Agro (E), Lez e Parc. A partir dos resultados obtidos neste estudo prévio foram selecionados para utilização neste trabalho, apenas dois solos: Agro (E) e Lez.

3.2. Caracterização do solo

3.2.1. Análise Mecânica

A análise mecânica dos solos Lez e Agro (E) foi realizada no Laboratório de Pedologia do Departamento de Recursos Naturais, Ambiente e Território.

Para a análise mecânica foram seguidos os procedimentos existentes no manual Métodos de Análise de Solos (Póvoas & Barral, 1992).

Neste processo obteve-se a percentagem de areia grossa, areia fina, limo e argila, assim como a humidade de ambos os solos.

3.2.2. Método de Keen-Raczkowski

A determinação da massa volúmica das partículas, assim como da massa volúmica aparente do solo, foi realizada através do Método de Keen-Raczkowski. A metodologia utilizada está descrita em Cortez (1983).

3.2.3. Determinação do pH e condutividade elétrica

A determinação do pH e da condutividade elétrica do solo foram determinadas recorrendo ao método descrito por Póvoas & Barral (1992).

O pH do solo foi determinado numa suspensão de solo/água (pH H₂O) e numa suspensão solo/solução KCl a 1 M (pH KCl ou acidez de troca), numa proporção de 1:2,5 (m/v), após 1 h de contacto, utilizando um potenciómetro *Metrohm model 632*.

A condutividade elétrica foi determinada na mesma suspensão de pH H₂O, utilizando um condutivímetro *Metrohm model 660*.

Esta metodologia foi utilizada para as determinações analíticas do solo, antes e depois do ensaio. Para a constituição das amostras de solo este foi sempre crivado, uniformizado e seco a 50 °C, em estufa ventilada, durante 3 dias. As amostras recolhidas foram no mínimo de 100 g de amostra seca.

3.2.4. Carbono orgânico total e matéria orgânica

O carbono orgânico total foi obtido por combustão via seca, num analisador de carbono (Skalar TOC Formac – Analyzer). Pesaram-se entre 0,5 – 1,0 g de solo, em cadinhos de quartzo, que foram introduzidos num amostrador automático para serem colocados no forno de combustão a elevada temperatura (1200 °C). A esta temperatura o carbono, presente na amostra é totalmente oxidado, com a formação de CO₂, que é posteriormente medido por um detetor de infravermelhos não dispersivo específico para o carbono total (%).

O valor obtido para a matéria orgânica (MO) é estimado multiplicando o teor de carbono orgânico total por 1,724, admitindo que a MO contém aproximadamente 58 % de carbono.

Esta metodologia foi utilizada para as determinações analíticas do solo, antes e depois do ensaio. Para a constituição das amostras de solo este foi sempre crivado, uniformizado e seco a 50 °C, em estufa ventilada, durante 3 dias. As amostras recolhidas foram no mínimo de 100 g de amostra seca.

3.2.5. Concentração de micronutrientes extraíveis

Apenas parte dos elementos químicos totais no solo se encontram na sua forma disponível para as plantas. Por esse motivo para além da determinação dos elementos totais, extraídos por digestão ácida, realizou-se a extração de bases de troca (ou macronutrientes) e micronutrientes extraíveis, correspondendo assim a uma aproximação dos elementos extraíveis pela planta. A determinação de elementos totais ou extraíveis das soluções de amostra foi sempre realizada por EAA.

A determinação de micronutrientes extraíveis realizou-se recorrendo ao método de Lakanen & Ervio (1971).

A solução de amostra de solo obteve-se por agitação de 4 g de solo com 40 mL de solução de extração de Lakanen, constituída por ácido acético (0,5 M), acetato de amónio (0,5 M) e EDTA (0,02 M) durante 15 min. Após centrifugação durante 10 min a 3500 x g (*Centrifuge 5804*), quantificou-se o Cu, Fe, Zn e Mn por espectrofotometria de absorção atómica em chama (*Unicam Solaar M*) e expressos em mg/kg MS.

Esta metodologia foi utilizada para as determinações analíticas do solo, antes e depois do ensaio. Para a constituição das amostras de solo este foi sempre crivado, uniformizado e seco a 50 °C, em estufa ventilada, durante 3 dias. As amostras recolhidas foram no mínimo de 100 g de amostra seca.

3.2.6. Concentração de macronutrientes extraíveis

A determinação de macronutrientes extraíveis ou bases de troca foi realizada recorrendo ao método de Schollenberger & Simon (1945).

A solução de amostra de solo obteve-se por agitação de 2 g de solo com 30 mL de solução de acetato de amónio (1 M, pH 7) durante 15 min. Após centrifugação durante 10 min a 3500 x g, quantificou-se o Ca, Mg, K e Na por espectrofotometria de absorção atómica em chama (Unicam Solaar M).

Esta metodologia foi utilizada para as determinações analíticas do solo, antes e depois do ensaio. Para a constituição das amostras de solo este foi sempre crivado, uniformizado e seco a 50 °C, em estufa ventilada, durante 3 dias. As amostras recolhidas foram no mínimo de 100 g de amostra seca.

3.3. Instalação do ensaio

O ensaio de produção de arroz foi instalado no Horto de Química Agrícola, do Centro de Investigação em Agronomia, Alimentos, Ambiente e Paisagem (LEAF) do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, e decorreu entre 6 de junho de 2018 e 16 de outubro de 2018.

Para a realização do ensaio experimental foi utilizada terra retirada do canteiro de cultivo de arroz designado por Lez, e terra do canteiro de cultivo de arroz designado por Agro (E). As amostras de terra foram previamente desagregadas, colocadas numa zona isolada do Horto para que a água nelas existente evaporasse e, posteriormente foram crivadas em crivo de malha de 2 mm.

Usaram-se sementes de arroz (*O. sativa*) das variedades Gládio e Ronaldo, respetivamente agulha e carolino. As suas características principais são apresentadas no **Quadro 8**:

Quadro 8 - Características principais das variedades em estudo.

		Gládio	Ronaldo
Variedade		Longo B (agulha)	Longo A (carolino)
Altura da planta		≈ 51,2 cm	≈ 85 cm
Comprimento da Panícula		≈ 15 cm	≈ 15 cm
Ciclo Vegetativo	Sementeira à floração	≈ 94 dias	≈ 85 dias
	Sementeira à maturação	≈ 135 dias	≈ 148 dias
Capacidade de afilamento		Boa	Elevada
Resistência		Acama, Piriculária, Helmintosporiose	Acama, Piriculária, Helmintosporiose
Rendimento Industrial		Muito elevado	Elevado

(adaptado de: Tecnorisi - <http://www.tecnorisi.pt/produto/Ronaldo> - Acedido a 21 de março de 2019, e de Lusosem - Produtos Para Agricultura, S. A. (2016). Catálogo Arroz.

[https://www.lusosem.pt/uploads/subcanais_ficheiros/file\[5\].pdf](https://www.lusosem.pt/uploads/subcanais_ficheiros/file[5].pdf) – Acedido a 21 de março de 2019).



As plantas cresceram em vasos de 10 L de capacidade, com cerca de 9 kg de terra. Usou-se um total de 24 vasos, 12 para cada tipo de solo e cada vaso com cerca de oito plantas (quatro da variedade Ronaldo e quatro da variedade Gládio), devidamente identificadas em cada vaso (**Figura 7**). A sementeira foi feita já em regime de alagamento, após pré-germinação das sementes.

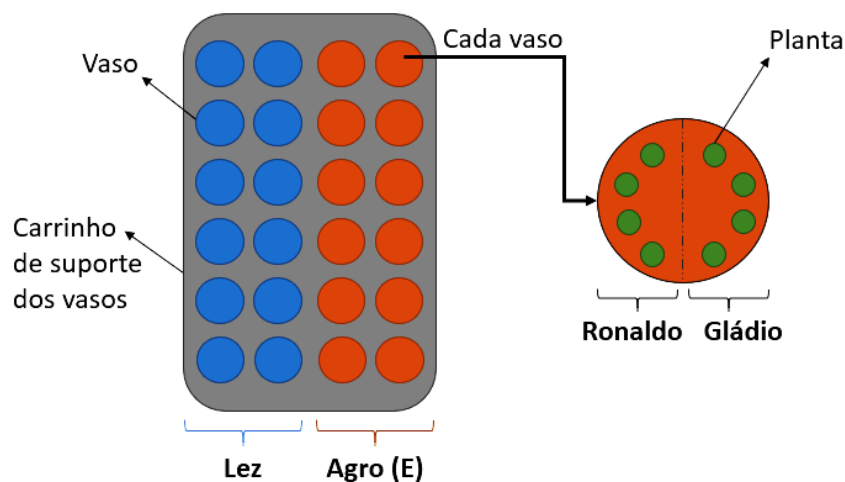


Figura 7 - Esquema representativo do ensaio.

Na **Figura 8** é possível visualizar o ensaio e algumas fases do mesmo, desde a sementeira à fase da maturação total da planta.

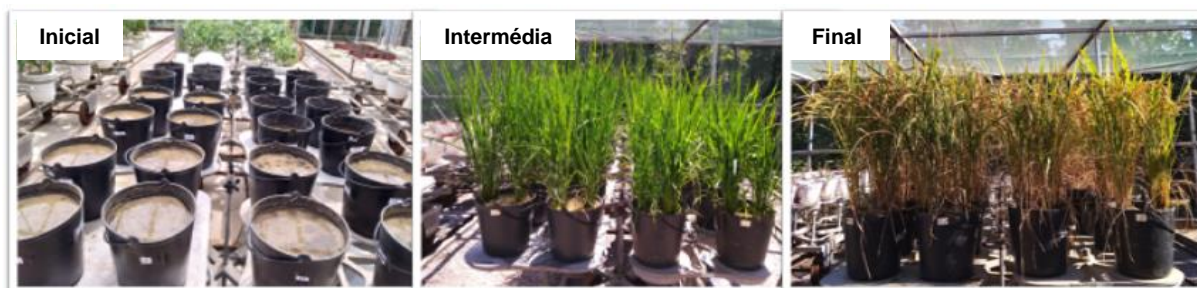


Figura 8 - Ensaio na fase inicial, intermédia e final.

Durante o ensaio as plantas foram mantidas em regime de alagamento por adição de água desionizada. Procedeu-se à aplicação de uma solução nutritiva de macronutrientes (**Quadro 9**), antes da primeira colheita de amostras (10 de julho) e na semana seguinte à segunda colheita (9 de agosto), de modo a garantir os macronutrientes necessários ao bom desenvolvimento das plantas.

Quadro 9 - Preparação de Solução Stock de Macronutrientes.

Adaptado de Yoshida *et al.*, 1976.

Elemento	Reagente	Preparação (g/10 Litros de água desionizada)
N	NH ₄ NO ₃	914
P	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	403
K	K ₂ SO ₄	714
Ca	CaCl ₂	886
Mg	MgSO ₄ .7H ₂ O	3240

Foram feitas 7 colheitas de amostras de material vegetal ao longo do desenvolvimento da cultura, tendo a primeira ocorrido a 23 de julho de 2018 (com 48 dias de desenvolvimento), e as seguintes com um desfasamento de 15 dias (**Quadro 10**), sendo a última colheita a 16 de outubro de 2018 (com 138 dias de desenvolvimento). Em cada colheita, foram retiradas ao acaso quatro plantas de cada solo, sendo duas plantas da variedade Gládio e duas plantas da variedade Ronaldo, permanecendo nos vasos plantas até à produção de semente.

Quadro 10 - Diferentes fases de crescimento da planta de arroz nas diferentes colheitas.

Colheita	Dias de Desenvolvimento	Fase de crescimento
1	48	Afilhamento (3 a 5 filhos)
2	63	Afilhamento (8 a 10 filhos)
3	78	Diferenciação da panícula
4	93	Gládio – final de emburrachamento Ronaldo – ântese
5	108	Gládio – vingamento Ronaldo – início de grão leitoso
6	123	Gládio – leitoso a duro Ronaldo – grão duro
7	138	Desenvolvimento completo

Após a colheita, as plantas foram cortadas, separando a parte aérea da raiz, pesadas em fresco e colocadas durante uma semana em estufa ventilada, a uma temperatura de 50°C. Após esta semana, voltaram a ser pesadas, de modo a determinar o teor de matéria seca, como referido no capítulo 3.4. deste estudo.

De referir que as sementes foram separadas da parte aérea, e submetidas ao mesmo processo. No entanto, após a semana na estufa ventilada, estas foram debulhadas manualmente, de forma a obter apenas o grão sem palha. Os métodos utilizados para a determinação da concentração de EPT foram os mesmos descritos no capítulo 3.5, sendo estes aplicados em cada uma das 7 colheitas efetuadas.

O solo utilizado nos ensaios foi analisado antes e após cada ensaio, de acordo com as metodologias referidas em 3.2, 3.4 e 3.5 (os capítulos 3.2.1 e 3.2.2 foram apenas antes do ensaio).

3.4. Teor de matéria seca em solos e plantas

Para a determinação do teor de matéria seca, as amostras do material vegetal (raiz, folha ou folha e colmo e sementes) e as amostras de terra foram colocadas numa estufa ventilada à temperatura de 50 °C. As amostras, previamente pesadas em fresco, foram novamente pesadas após uma semana na estufa, até se obter peso constante. Deste modo, com as massas de material seco obtidas é possível estimar a percentagem de matéria seca, definida como:

$$\% MS = \frac{M_{seca}}{M_{fresca}} \times 100$$

3.5. Determinação de elementos totais em solos e plantas

Os métodos laboratoriais para análise da componente vegetal seca e do solo, tiveram como objetivo principal a determinação quantitativa e qualitativa dos EPT em estudo, cádmio, crómio, chumbo, cobre, arsénio, assim como dos elementos manganês, ferro e zinco.

Todas as amostras foram previamente secas e os resultados serão referidos em relação à matéria seca. As amostras de solo foram crivadas numa malha de 2 mm. As amostras de raízes, palha, sementes e solo foram depois maceradas seguindo-se o procedimento de digestão ácida.

A digestão ácida (passo 1 da **Figura 9**) dos solos e dos materiais vegetais secos (raízes, palha e sementes), baseia-se na adição de ácido clorídrico (2,5 mL), a 37%, e de ácido nítrico (7,5 mL) a 65%, para tubos de teflon com cerca 0,4 g de material seco. No caso dos solos foram adicionados previamente 2 mL de Peróxido de Hidrogénio, e após uma hora, adicionados 9 mL de ácido clorídrico e 3 mL de ácido nítrico. Para todas as amostras foi realizado um triplicado. Em cada digestão, realizou-se um ensaio em branco e colocou-se uma amostra de material de referência certificado, espinafre - *Spinacea olearacea* (WEPAL-IPE-984).

A digestão ácida é um processo que submete o material seco a elevadas temperaturas permitindo a libertação de gases, o que conduz a uma digestão rápida da matéria orgânica. Todas as digestões do material vegetal atingiram temperaturas na ordem dos 105 °C e decorreram durante um período de aproximadamente 130 minutos, num digestor DigiPREP MS. No caso dos solos, a digestão atingiu temperaturas de aproximadamente 95 °C e decorreu num período de aproximadamente 170 minutos. Com a digestão terminada, e após arrefecimento à temperatura ambiente, procedeu-se à transferência do material digerido para balões volumétricos de 25 mL, perfazendo o volume com água Milli-Q. Esta ação teve lugar numa hotte devido à libertação de gases provenientes dos ácidos previamente adicionados (passo 2 da **Figura 9**). De seguida, todas as amostras foram filtradas para frascos devidamente identificados (passo 3 da **Figura 9**), sendo depois transferida alguma quantidade amostra para os tubos de leitura (passo 4 da **Figura 9**).

As determinações dos elementos minerais e tóxicos executaram-se num espectrofotômetro de emissão atômica acoplada de plasma induzido, Thermo Scientific iCAP 7000 Series, ICP-OES (passo 5 da **Figura 9**). Para leitura das absorvâncias de cada elemento nas amostras digeridas foram necessárias diluições dos extratos, de modo a que todos os resultados estivessem no intervalo da curva padrão, selecionada consoante o elemento a determinar.

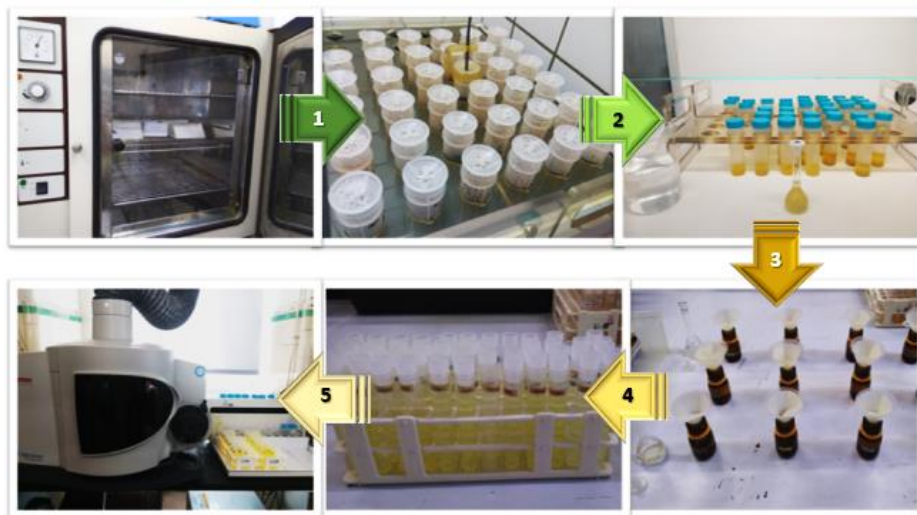


Figura 9 - Diagrama representativo da determinação analítica dos elementos em estudo, no solo e nas plantas.

3.6. Tratamento Estatístico

Os resultados obtidos nas determinações analíticas foram compilados e tratados estatisticamente com recurso ao *software* IBM® SPSS® Statistics 23.0.

Com o objetivo de avaliar as diferenças significativas entre os resultados obtidos para cada modalidade, aplicou-se a análise de variância a um fator (ANOVA), com o teste de Tukey, para um nível de confiança de 95%, no caso da concentração de EPT na planta.

Para o tratamento estatístico da concentração de EPT no solo, foi realizado um Teste *t-student* de amostras independentes para comparação de médias.

Na apresentação dos resultados, as letras minúsculas, no topo de cada coluna dos gráficos, indicam as diferenças significativas entre as médias nas diferentes modalidades (quatro no total), para cada modalidade de ensaio (Ronaldo Lez, Ronaldo Agro (E), Gládio Lez, Gládio Agro (E)) em cada parte da planta. Sempre que se repete a mesma letra, significa que os valores médios são estatisticamente iguais, para $p < 0,05$.

As barras de erro, presentes nas colunas dos gráficos, representam o desvio-padrão (DP) da média das amostras.



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados neste capítulo foram baseados no ensaio que decorreu com apenas dois dos quatro solos iniciais de uma região orizícola nacional (tal como foi referido em **3.1.**). Em relação ao material vegetal, foram utilizados apenas os resultados obtidos na última colheita do ensaio (colheita 7), isto é, ao fim de 138 dias de crescimento, uma vez que nesta se obteve o grão de arroz maduro, que poderá constituir, ou não, uma ameaça para a saúde humana.

4.1. Caracterização do solo

4.1.1. Solo pré-ensaio

Antes do ensaio os solos provenientes da região orizícola foram caracterizados em alguns parâmetros, como a textura, densidade aparente, teor de matéria orgânica, carbono total, pH, condutividade, macro e micronutrientes extraíveis (**Quadro 11**).


Quadro 11 - Caracterização dos solos pré-ensaio.

Parâmetro		Solo Lez	Solo Agro (E)
Textura de campo ²		Franco-argilo-limoso	Arenoso
Densidade aparente (Mg/m ³) ³		1,62 (Vertissolo quando seco - solo argiloso)	1,48 (Solo cultivado de textura grosseira)
Densidade das partículas (Mg/m ³)		2,52	2,54
Porosidade (%)		35,78	41,67
pH (H ₂ O) (1:2,5)		6,86	5,30
Condutividade elétrica (1:2) (dS/cm) ⁴		0,11247 (não salino)	0,00188 (não salino)
Carbono Total (%)		1,87	0,87
Matéria Orgânica (%)		3,22	1,51
Macronutrientes extraíveis	Potássio extraível (K) (mg/kg MS)	210,74	89,57
	K (K ₂ O) (mg/kg MS)	253,96	107,94
	Fósforo extraível (P) (mg/kg MS)	65,60	40,34
	P (P ₂ O ₅) (mg/kg MS)	150,25	92,38
	Cálcio extraível (Ca) (mg/kg MS)	1529,82	233,41
	Magnésio extraível (Mg) (mg/kg MS)	609,81	63,46
	Sódio extraível (Na) (mg/kg MS)	615,60	48,23
Micronutrientes extraíveis	Ferro extraível (Fe) (mg/kg MS)	1118,39	301,27
	Cobre extraível (Cu) (mg/kg MS)	35,43	1,98
	Zinco extraível (Zn) (mg/kg MS)	42,88	3,01
	Manganês extraível (Mn) (mg/kg MS)	483,06	23,67

² Classificação segundo a **Figura 6**
³ Classificação segundo o **Quadro 6**
⁴ Classificação segundo o **Quadro 7**



4.1.2. Solo pós-ensaio

Após o ensaio, foram novamente avaliados alguns parâmetros dos solos utilizados no ensaio. No **Quadro 12** é possível verificar os dados obtidos para esses parâmetros.

Quadro 12 - Caracterização dos solos pós-ensaio.

Parâmetro		Solo Lez	Solo Agro (E)
pH (H ₂ O) (1:2,5)		6,98	5,75
Condutividade elétrica (1:2) (dS/cm)		0,14915 (não salino)	0,0069855 (não salino)
Macronutrientes extraíveis	Potássio extraível (K) (mg/kg MS)	223,32	41,25
	K (K ₂ O) (mg/kg MS)	269,12	49,71
	Fósforo extraível (P) (mg/kg MS)	106,75	37,44
	P (P ₂ O ₅) (mg/kg MS)	244,50	85,74
	Cálcio extraível (Ca) (mg/kg MS)	1602,90	247,80
	Magnésio extraível (Mg) (mg/kg MS)	694,69	133,30
	Sódio extraível (Na) (mg/kg MS)	586,85	78,42
Micronutrientes extraíveis	Ferro extraível (Fe) (mg/kg MS)	2528,81	248,51
	Cobre extraível (Cu) (mg/kg MS)	28,14	1,32
	Zinco extraível (Zn) (mg/kg MS)	40,38	3,52
	Manganês extraível (Mn) (mg/kg MS)	476,02	11,97

Verifica-se pela observação dos **Quadros 11** e **12** que o solo Lez é completamente diferente do solo Agro (E). Após o ensaio, este solo tinha valores semelhantes, pelo que confirma, assim, que não houve falta de nutrientes para o bom desenvolvimento das plantas.



4.2. Teor de EPT no solo

Após a caracterização do solo do ponto de vista físico e químico e de alguns fatores que possam influenciar a concentração de EPT nos solos estarem também caracterizados, é agora essencial analisar a concentração de alguns EPT nos dois solos em estudo.

Para uma análise mais detalhada, escolheram-se oito elementos atendendo à existência de valores limite na legislação portuguesa e a serem elementos essenciais para a planta de arroz (Decreto-Lei nº 236/98 de 1 de agosto; Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro; Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho; Yoshida *et al.*, 1976).

Todos os teores dos elementos enumerados em baixo foram obtidos após digestão ácida dos solos em estudo.

Embora as quantidades de um determinado EPT existentes no solo possam indicar a possibilidade de translocação para as plantas e contaminação da cadeia alimentar, é preciso considerar que o EPT possa encontrar-se em formas com menor biodisponibilidade para as plantas, podendo não se encontrar uma relação direta entre a quantidade no solo e a acumulação nas plantas. Esta acumulação dependerá do elemento específico, das características do solo e também da planta e do tempo da cultura.

4.2.1. Arsénio

Por observação da **Figura 10** é possível verificar que a concentração de arsénio é superior no solo Lez relativamente ao Agro (E). No entanto, os valores do solo Lez estão acima do VR estabelecido pelas Normas de Ontário, 11 mg As/kg MS de solo, o que pode causar problemas de contaminação em culturas plantadas nesse solo. A acumulação excessiva de arsénio no arroz pode ser mitigada por meio de estratégias agronómicas e de cultivo. A modificação genética pode ser utilizada para projetar plantas mais tolerantes ao arsénio, ou com absorção reduzida para melhorar a segurança alimentar (Zhao *et al.*, 2010).

Como referido no subcapítulo 2.2.2. deste presente estudo, este elemento no solo tem uma concentração usual <5 até 40 mg As/kg solo, o que realmente se verifica pela observação da figura em cima. O facto de os solos no fim do ensaio apresentarem maior concentração de arsénio, deve-se provavelmente a serem amostras diferentes, retiradas em locais diferentes e alturas diferentes, pelo que é natural que existam pequenas variações. Em princípio as quantidades que as plantas absorvem não são suficientes para reduzir o teor nos solos, pelo que não se devia detetar nenhuma alteração no solo.

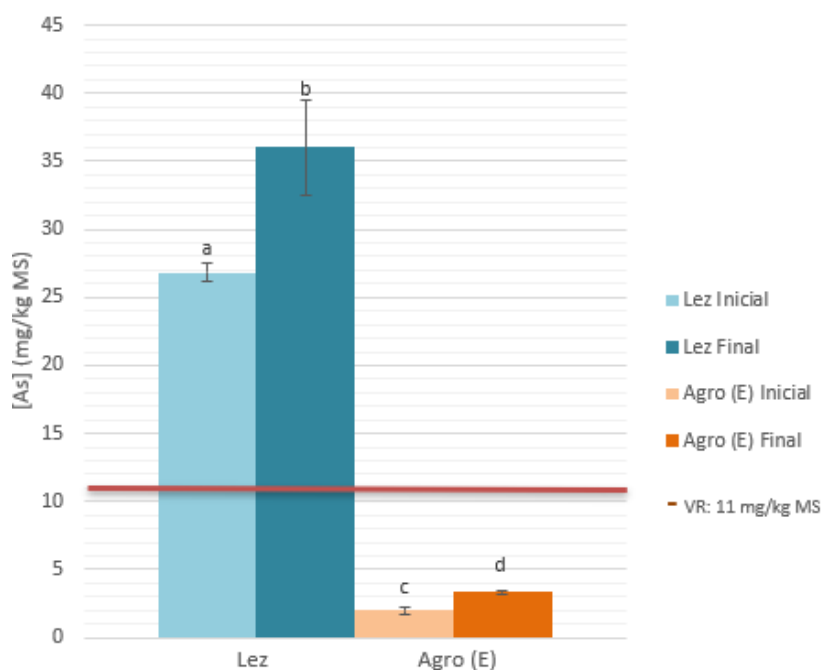


Figura 10 - Teor de arsênio (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para uma dada concentração de arsênio. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

4.2.2. Cádmio

Relativamente aos teores de cádmio, estes foram mais elevados no solo Lez, não ultrapassando, no entanto, o LM de 3 mg Cd/kg MS solo, estabelecido pelo Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro, para solos com pH entre 5,5 e 7, como é o caso do solo Lez inicial e final, e também do solo Agro (E) final. O solo Agro (E) inicial tem um pH inferior a 5,5, e, portanto, o LM definido para este solo é 1 mg Cd/kg MS solo. Portanto, todos os solos estavam dentro do LM (**Figura 11**).

Este elemento tem uma concentração usual nos solos <1 até 2 mg Cd/kg solo (Varennnes, 2003; Nagajyoti, 2010), pela figura acima é possível verificar que os solos em estudo contêm menos de 2 mg Cd/kg solo.

Novamente os teores de cádmio nos solos finais são ligeiramente superiores aos teores nos solos iniciais, no entanto esta diferença não é relevante para o estudo em questão, e pode dever-se ao facto de serem amostras de solo diferentes.

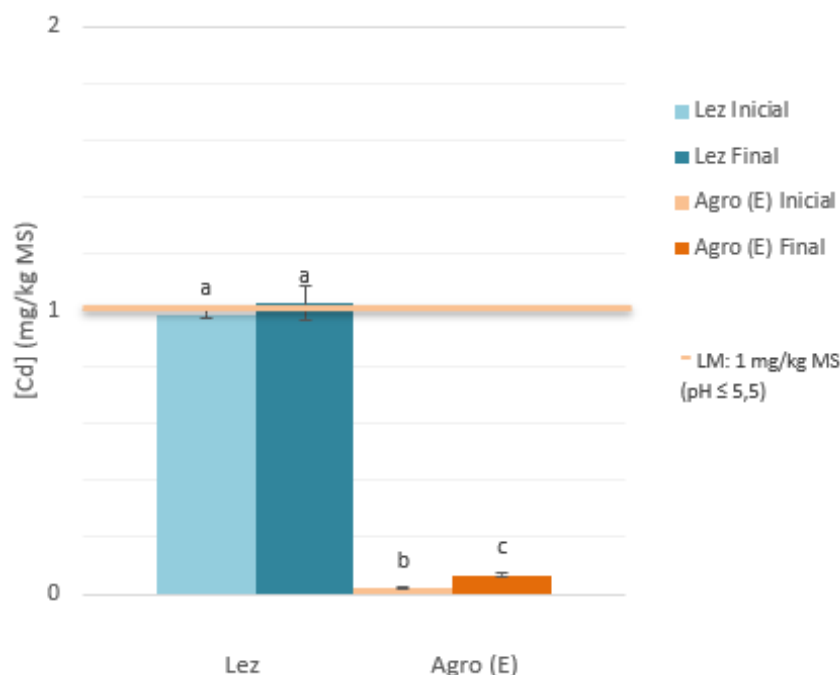


Figura 11 - Teor de cádmio (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para uma dada concentração de cádmio. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

4.2.3. Chumbo

No caso do chumbo, os maiores teores encontram-se no solo Lez, no entanto os teores deste elemento foram abaixo dos LM estabelecidos pelo Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro, 300 mg Pb/kg MS solo para solos com pH entre 5,5 e 7, e 50 mg Pb/kg MS solo para solos com pH inferior a 5,5, como é o caso do solo Agro (E) final (**Figura 12**).

Segundo Varennes (2003) e Nagajyoti (2010), este elemento tem uma concentração usual nos solos entre 10 e 200 mg Pb/kg solo. Pela figura acima é possível verificar que este elemento não está acima da concentração usual em que costuma estar presente nos solos.

4.2.4. Crômio

O Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro, estabelece o LM de 200 mg Cr/kg MS solo para solos com pH entre 5,5 e 7, e 50 mg Cr/kg MS solo para solos com pH inferior a 5,5. Pela **Figura 13**, é possível verificar que todos os solos estão dentro dos LM e que a maior concentração está no solo Lez.

Usualmente este elemento está presente nos solos com uma concentração entre 5 e 3000 mg Cr/kg solo. Nestes solos em particular os níveis de crômio estão dentro dessa concentração (Varennes, 2003; Nagajyoti, 2010).

As diferenças entre os solos iniciais e finais, Lez e Agro (E), não são relevantes para este estudo e por isso não serão discutidas.

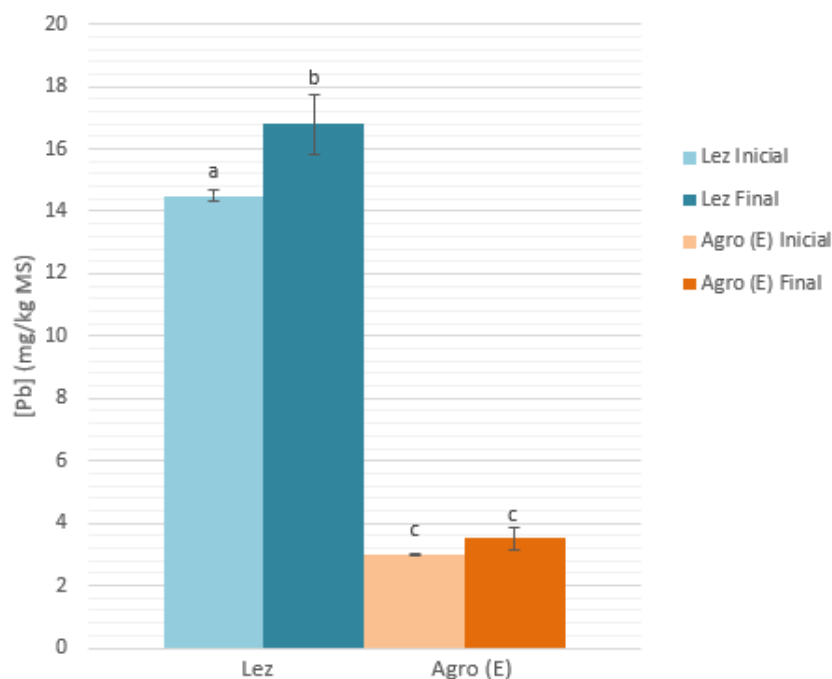


Figura 12 - Teor de chumbo (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para uma dada concentração de chumbo. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

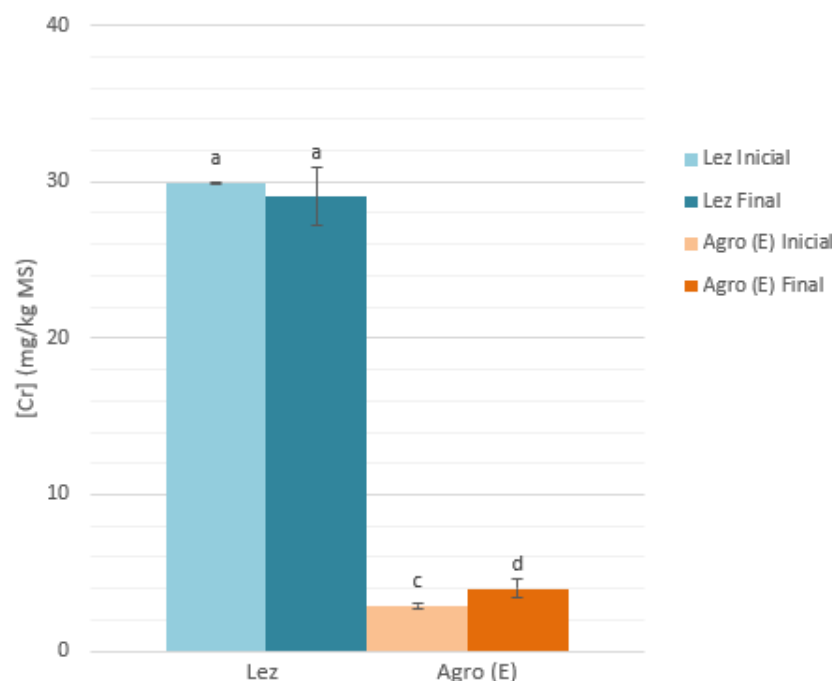


Figura 13 - Teor de crômio (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para uma dada concentração de crômio. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.



4.2.5. Cobre

No caso do cobre, o LM admitido pelo Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro, para solos com pH entre 5,5 e 7 é 100 mg Cu/kg MS solo, e para solos com pH inferior a 5,5 o LM é 50 mg Cu/kg solo. Todos os solos apresentam valores de concentração deste elemento abaixo do LM (**Figura 14**).

Relativamente à sua concentração usual nos solos, este elemento varia entre 2 e 100 mg Cu/kg solo e, como se pode verificar na figura em baixo, os valores observados nos solos em estudo estão dentro desta gama (Varennnes, 2003; Nagajyoti, 2010). Sendo, mais uma vez, o solo Lez com maior concentração deste elemento.

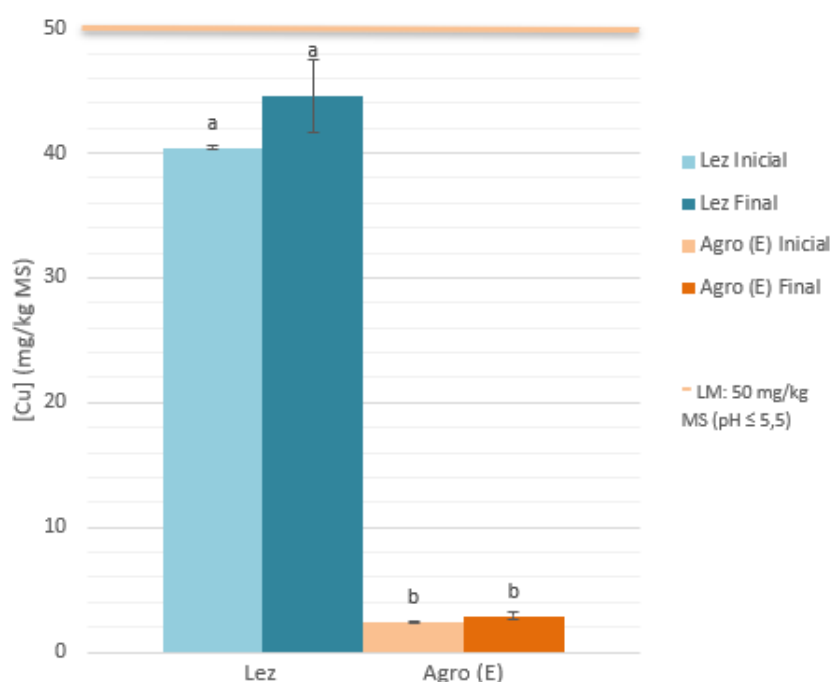


Figura 14 - Teor de cobre (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para uma dada concentração de cobre. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

4.2.6. Ferro

Sendo o ferro um elemento essencial às plantas e não tão tóxico para a saúde humana, este elemento não tem nenhum limite ou valor recomendado.

Pela **Figura 15** é possível verificar que a concentração deste elemento é elevadíssima comparada com os outros elementos, na ordem dos milhares mg Fe/kg MS solo. Sendo o solo Lez o solo mais rico em ferro, o que pode afetar a mobilidade dos outros elementos e a sua absorção pela planta.

O ferro é o elemento em maior concentração nos solos, usualmente, com valores entre 7000 e 55000 mg Fe/kg solo (Varennnes, 2003; Nagajyoti, 2010), o que pela observação da figura em baixo se verifica, principalmente no solo Lez.

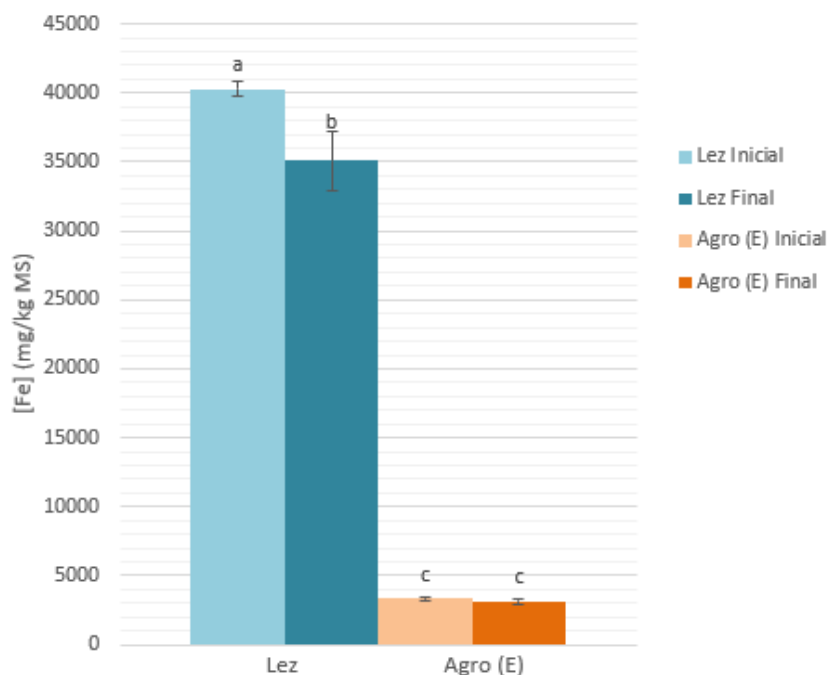


Figura 15 - Teor de ferro (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para uma dada concentração de ferro. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

4.2.7. Manganês

O manganês também é um elemento essencial à planta que não tem um VR ou LM estabelecido. Deste modo, apenas podemos evidenciar a elevada diferença entre os teores deste elemento nos solos em estudo, em que o solo Lez sobressai com a maior concentração (**Figura 16**).

Usualmente este elemento está presente nos solos em concentrações entre 100 e 4000 mg Mn/kg solo, o que pela figura em baixo se verifica, principalmente no solo Lez (Varennnes, 2003; Nagajyoti, 2010).

4.2.8. Zinco

Pela **Figura 17**, é possível verificar que todos os valores estão abaixo do LM admitido pelo Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro, sendo este LM para solos com pH entre 5,5 e 7 de 300 mg Zn/kg MS solo, e para solos com pH inferior a 5,5 o LM de 150 mg Zn/kg MS solo. Este último apenas se aplica ao solo Agro (E) inicial, que tem pH inferior a 5,5.

Mais uma vez o solo Lez tem uma maior concentração relativamente ao solo Agro (E).

A concentração usual de zinco nos solos varia entre 25 e 300 mg Zn/kg solo, o que neste caso também se verifica, especialmente no solo Lez (Varennnes, 2003; Nagajyoti, 2010).

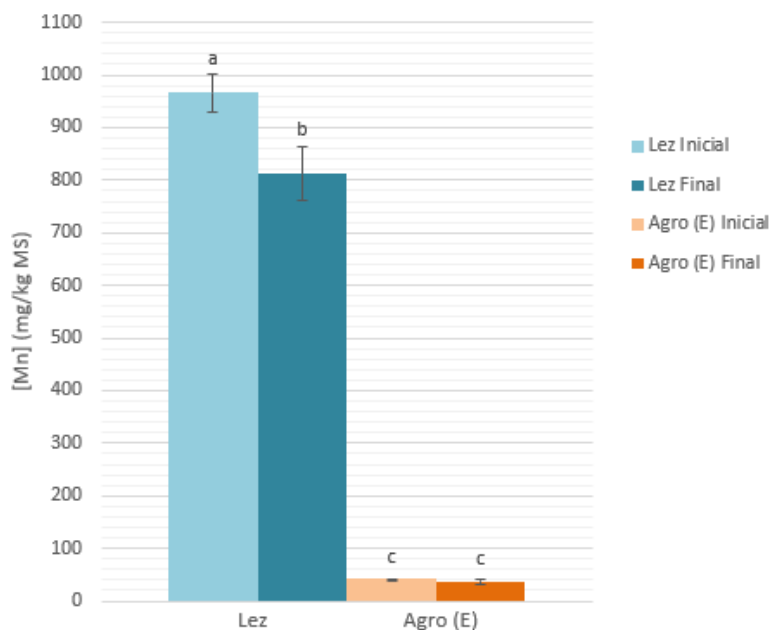


Figura 16 - Teor de manganês (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para uma dada concentração de manganês. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

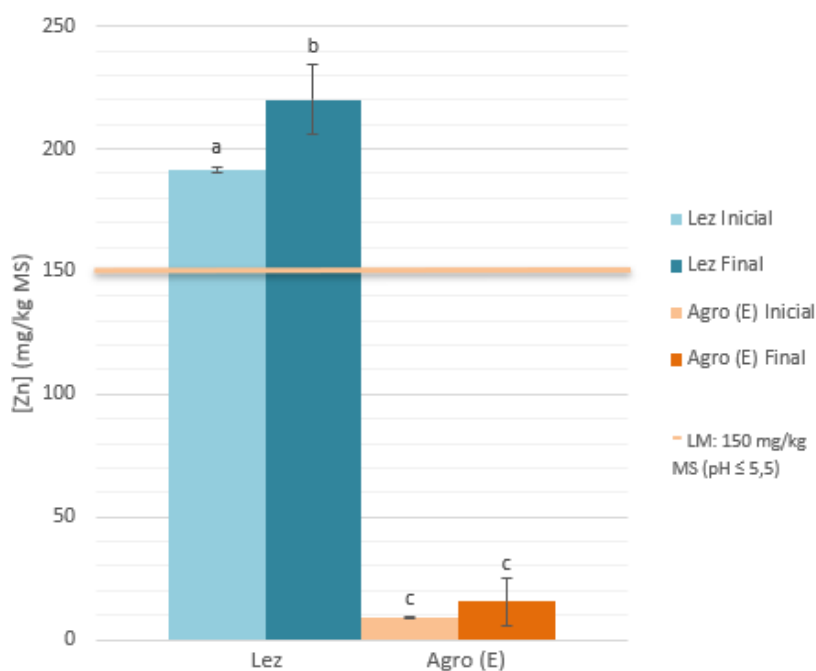


Figura 17 - Teor de zinco (mg/kg MS) em ambos os solos em estudo, antes e após o ensaio.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para uma dada concentração de zinco. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.



4.2.9. Conclusões intercalares

Conclusões Intercalares:

- O solo Lez difere significativamente do solo Agro (E), apresenta-se como um solo com maior contaminação, contendo uma maior concentração de todos os elementos, tanto de nutrientes como de contaminantes.
- O solo Lez ultrapassa o VR de 11 mg As/kg MS solo, estipulado pela Norma de Ontário, o que pode constituir problemas ao nível da segurança alimentar.
- Todos os outros elementos estão abaixo dos limites máximos admitidos na legislação em vigor para os teores em solos.



4.3. Teor de EPT na planta

Neste capítulo são apresentados os resultados referentes aos teores dos diferentes EPTs em estudo nas diferentes partes da planta de arroz no final do ensaio, comparando as duas variedades em estudo em relação aos dois solos utilizados.

4.3.1. Semente

A concentração de EPT na semente tem especial relevância devido à sua importância na alimentação humana e animal, porque pode constituir algum risco para a segurança alimentar.

Nas figuras em baixo (**Figuras 18 a 20**) estão representadas as concentrações dos EPT em estudo nas quatro diferentes modalidades (dois tipos de solo, LEZ e AGRO (E); e duas variedades, Ronaldo e Gládio). Nas figuras, os elementos estão agrupados por conveniência da escala de concentração utilizada.

Pela **Figura 18**, verifica-se que a concentração de ferro na semente é superior à concentração de manganês e zinco.

Verificam-se algumas diferenças significativas entre amostras idênticas (modalidade Ronaldo-LEZ e modalidade Gládio-LEZ), tais como os valores de ferro e zinco no solo AGRO (E) serem tão próximos do solo LEZ, tendo em conta que o solo LEZ tem teores mais elevados de EPT que o solo AGRO (E), no entanto, isto pode dever-se à mobilidade do elemento na planta, independentemente da concentração desse elemento no solo. Nem sempre uma maior concentração no solo significa maior concentração na planta, e a semente é a última parte da planta onde há acumulação de elementos.

Nos teores de ferro e do zinco na semente não se verificou grande influência nem pelo tipo de solo nem em relação à variedade estudada.

O manganês tem teores mais elevados no solo LEZ e sem diferenças significativas entre as duas variedades de arroz, dentro do mesmo solo, o que pode ser indicativo da influência da maior concentração de manganês no solo LEZ.

Os elementos arsénio, cádmio e chumbo têm LM para o grão de arroz, 0,20 mg/kg PF (Regulamento (UE) 2015/1006, que altera o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 para o arsénio; Regulamento (CE) N.º 1881/2006, da Comissão de 19 de dezembro de 2006 para os restantes elementos).

Pela **Figura 19**, é possível verificar que as concentrações de arsénio e chumbo estão acima do LM estabelecido, no entanto, o valor de arsénio só se encontrava acima do VR no solo LEZ, pelo que não seria de esperar a concentração de arsénio estar acima do LM nas sementes provenientes do solo AGRO (E). Será interessante repetir este processo para identificar as possíveis causas dessas diferenças.

Também no caso do chumbo, as diferenças são significativas e acima do LM para o grão de arroz, mas ambos os solos estavam abaixo dos LM de chumbo no solo, estabelecidos pelo Decreto-Lei n.º 276/2009 de 2 de outubro.



Os teores de cádmio estão abaixo dos valores limite definidos na legislação em vigor, com valores no solo LEZ superiores aos do solo AGRO (E), e tendo em conta o seu teor no solo (inferior a 1 mg/kg MS) a sua baixa concentração na semente. Neste caso, as variedades no solo LEZ absorveram ligeiramente mais cádmio que as variedades no solo AGRO (E), o que poderá estar relacionado com o teor de cádmio nos solos. A concentração deste elemento está abaixo do LM para o grão de arroz.

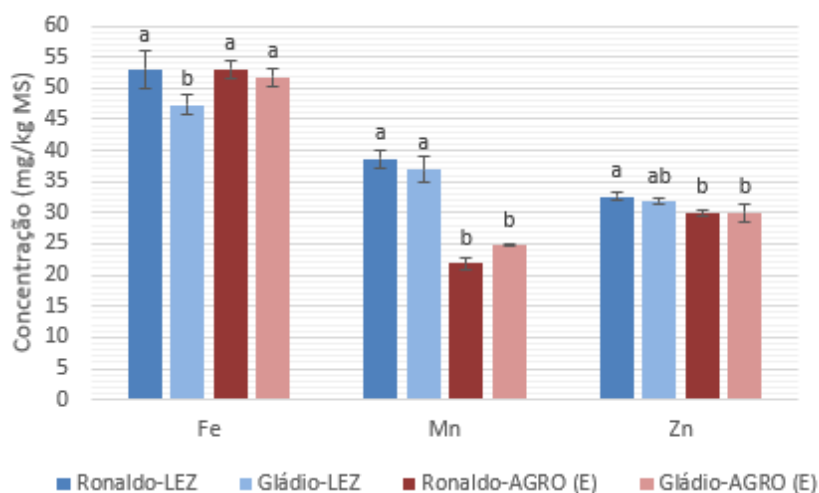


Figura 18 - Concentração (mg/kg MS) de ferro, manganês e zinco na semente, nas 4 modalidades do estudo.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

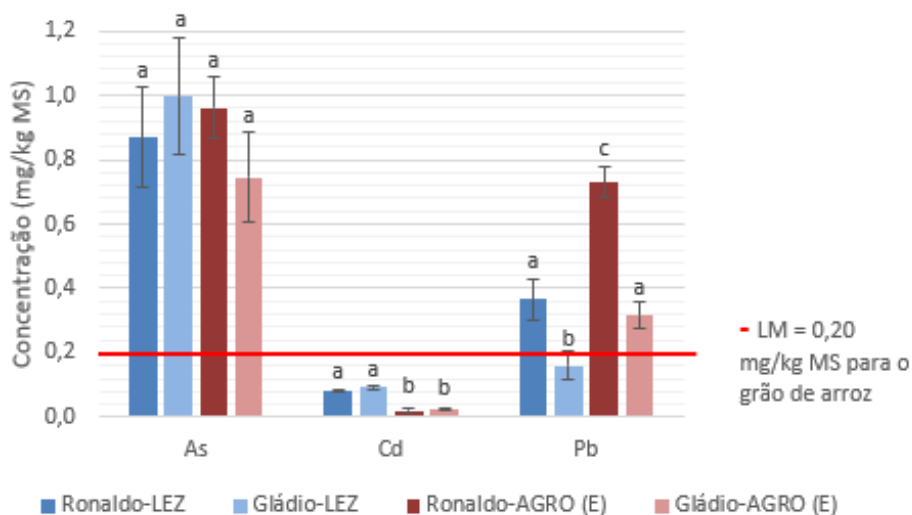


Figura 19 - Concentração (mg/kg MS) de arsénio, cádmio e chumbo na semente, nas 4 modalidades do estudo.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.



Observando a **Figura 20**, verifica-se que existem diferenças significativas entre as modalidades Ronaldo-LEZ e Gládio-LEZ para a concentração de cobre na semente, o que pode indicar uma maior absorção de cobre pela variedade Gládio. Relativamente ao Crômio, a sua concentração é muito semelhante nas quatro modalidades, embora o solo LEZ tenha maior teor de crômio, o teor na semente mantém-se constante, havendo assim uma absorção semelhante de crômio pelas duas variedades.

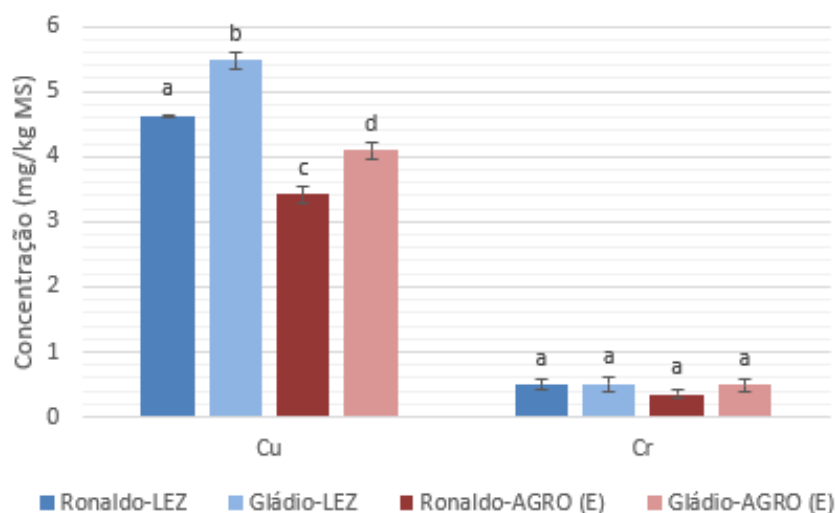


Figura 20 - Concentração (mg/kg MS) de cobre e crômio na semente, nas 4 modalidades do estudo. Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

Em termos gerais, e observando as **Figuras 18, 19 e 20**, o ferro é o elemento em maior concentração na semente, seguido do $Zn > Mn > Cu > As > Cr > Pb > Cd$. De referir que os quatro primeiros elementos (ferro, zinco, manganês, cobre) são nutrientes essenciais à planta e, portanto, mais absorvidos por esta.

Numa região orizícola chinesa, He *et al.* (2019), observou um gradiente de concentração na semente muito semelhante ao obtido neste estudo, embora apenas para os elementos Zn, Cu, Cr e Cd, em que nitidamente, a concentração de cobre e zinco são superiores nos solos e também na semente. Obteve também uma menor concentração de cádmio nos solos e na semente, o mesmo se verificou neste presente estudo.

4.3.2. Parte aérea

A concentração de EPT na parte aérea tem importância através da sua possível utilização enquanto restolho para remediação de solos, e/ ou como matéria fertilizante. O Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho, estabelece os valores máximos admissíveis (VMA) para os metais pesados presentes na matéria fertilizante com componentes orgânicos, estando estes valores dependentes da sua aplicação nos solos (já referido no capítulo 2.2.8).



Nas figuras seguintes estão representadas as concentrações dos EPT em estudo nas diferentes modalidades (tipo de solo e variedade). Os elementos estão agrupados por conveniência da escala de concentração utilizada.

Pela observação da **Figura 21**, a ausência de diferenças significativas entre a modalidade LEZ e a modalidade AGRO (E) são duvidosas, pois a concentração de manganês era muito diferente entre os dois solos. Seria importante repetir esta análise.

Quanto ao ferro, a sua concentração no solo era muito elevada (na escala dos milhares), no entanto na parte aérea a sua concentração não é tão elevada, e nota-se uma “homogeneidade” entre as quatro modalidades, embora a concentração de ferro no solo LEZ fosse muito superior à do solo AGRO (E), verifica-se que independentemente da variedade e do solo a planta absorveu este elemento de forma semelhante.

No caso do zinco, não há diferenças significativas também entre as modalidades no solo LEZ e AGRO (E). A acumulação deste elemento pelas plantas não variou muito entre os solos e entre as variedades. De acordo com o Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho, os valores obtidos para o zinco cumprem os requisitos para a utilização da parte aérea, em qualquer uma das classes, pois a concentração máxima de zinco ronda os 31,7 mg/kg MS, e o VMA menor (Classe I) é 200 mg/kg MS.

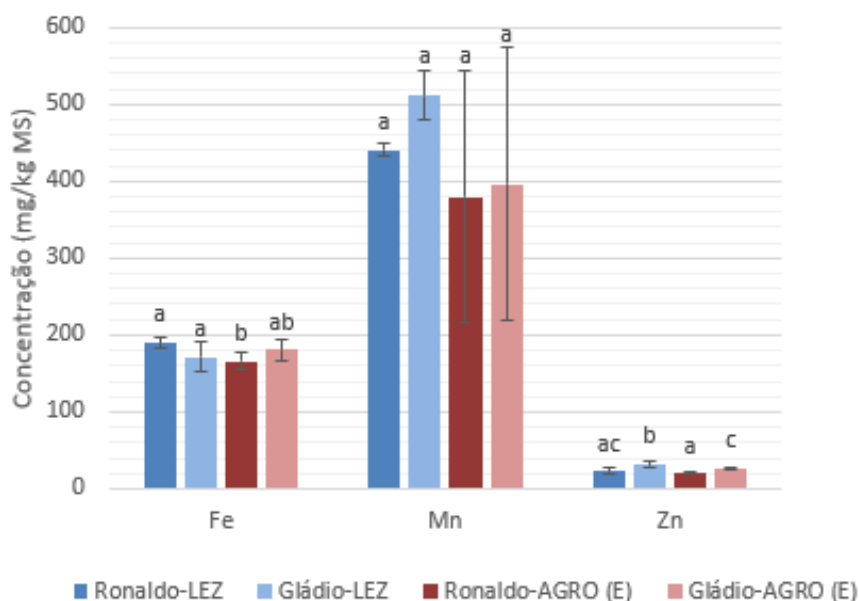


Figura 21 - Concentração (mg/kg MS) de ferro, manganês e zinco na parte aérea, nas 4 modalidades do estudo.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

Pela **Figura 22**, é possível verificar uma concentração elevada de arsénio, embora com diferenças significativas nas modalidades no solo LEZ, verifica-se também que ambas as variedades têm maior concentração deste elemento nas modalidades no solo LEZ.



A concentração de cobre na modalidade Gládio-AGRO(E) não tem diferenças significativas relativamente à modalidade Gládio-LEZ, e verifica-se uma maior absorção deste elemento pelas variedades no solo LEZ, solo com maior teor deste elemento.

O teor de crómio por sua vez, não apresenta nenhuma diferença significativa, o que indica que embora haja diferença de concentrações entre o solo LEZ e o solo AGRO (E), a absorção deste elemento não foi afetada e foi equiparada entre as quatro modalidades.

Relativamente à concentração de cobre e crómio, permitida pelo Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho, para a utilização da parte aérea, os valores de concentração destes elementos estão dentro do VMA, pois a concentração destes elementos é sempre inferior ao VMA menor (Classe I), 100 mg/kg MS.

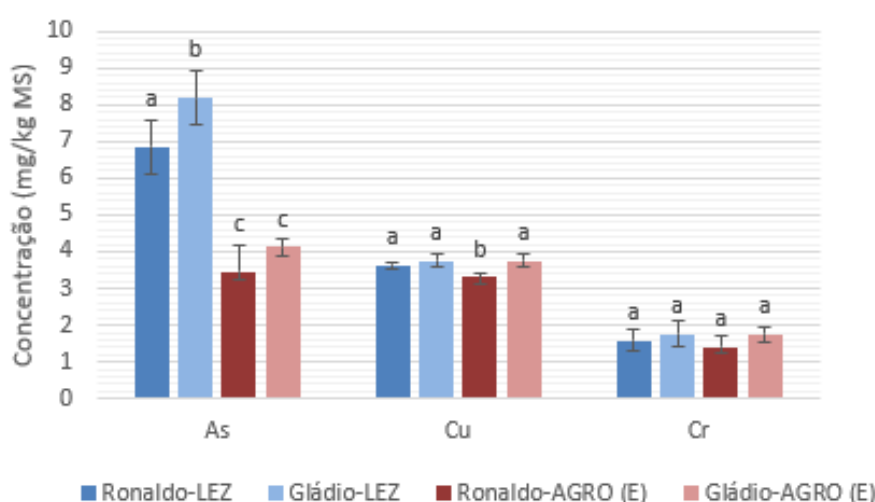


Figura 22 - Concentração (mg/kg MS) de arsénio, cobre e crómio na parte aérea, nas 4 modalidades do estudo.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

A **Figura 23** mostra as concentrações na parte aérea dos dois elementos que estavam em menor concentração no solo e que também se encontram em menor concentração na parte aérea.

No caso do cádmio, os resultados obtidos têm diferenças significativas apenas entre as amostras de solo LEZ e AGRO (E). A concentração baixa na parte aérea vai de encontro à concentração deste elemento no solo, e ao VMA mínimo de 0,7 mg Cr/kg MS (Classe I) definido pelo Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho, o que permite que esta parte aérea seja utilizada como matéria fertilizante.

A concentração de chumbo na parte aérea não tem diferenças significativas, nem ao nível dos solos nem das variedades, o que pode indicar a capacidade de a planta absorver este elemento não essencial, ser independente da concentração no solo ou da variedade. A concentração deste elemento está abaixo do VMA mínimo de 100 mg Pb/kg MS (Classe I), o que estabelece a utilização da parte aérea como matéria fertilizante.

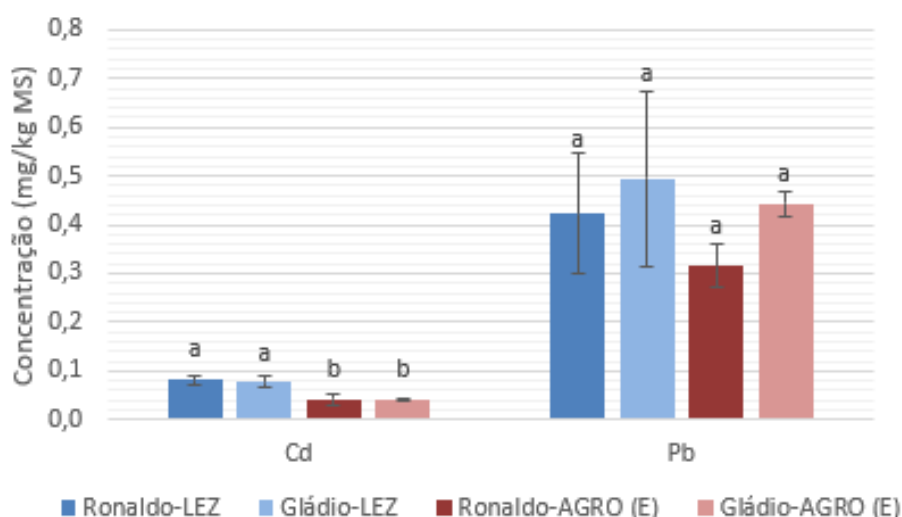


Figura 23 - Concentração (mg/kg MS) de cádmio e chumbo na parte aérea, nas 4 modalidades do estudo.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

4.3.3. Raiz

A concentração de EPT na raiz tem especial relevância devido a que esta parte da planta fica no solo após a colheita, ficando assim, ainda EPT disponíveis para uma próxima cultura.

Nas figuras em baixo estão representadas as concentrações dos EPT em estudo nas quatro diferentes modalidades (dois tipos de solo, LEZ e AGRO (E); e duas variedades, Ronaldo e Gládio). Os elementos estão agrupados de acordo com a escala de concentração.

Na **Figura 24**, verifica-se que a concentração de ferro na raiz das plantas nas amostras de solo LEZ é muito superior às das amostras AGRO (E), tendo este último também menor concentração de ferro relativamente ao solo LEZ (subcapítulo 4.2.6), o que pode indicar uma maior disponibilidade deste elemento no solo LEZ.

Não há diferenças significativas dentro das amostras do mesmo solo, para as diferentes variedades, o que indica que a absorção não é muito influenciada pela variedade, mas sim pelo tipo de solo.

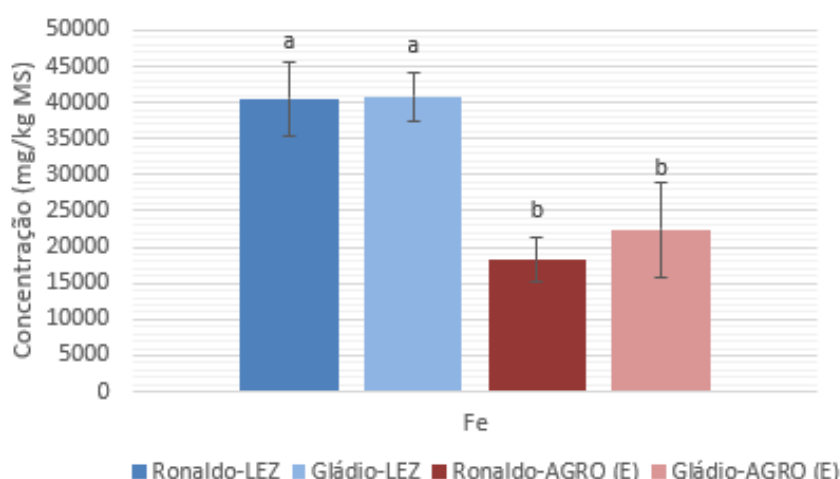


Figura 24 - Concentração (mg/kg MS) de ferro na raiz, nas 4 modalidades do estudo.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

A **Figura 25** apresenta uma concentração de arsênio muito elevada na raiz, relativamente às restantes partes da planta anteriormente analisadas. O que pode indicar a baixa mobilidade de arsênio e a sua pouca absorção pela planta. Verifica-se também que as raízes com mais arsênio estão na amostra de solo LEZ, e que a variedade Gládio absorve muito ligeiramente mais que a variedade Ronaldo. Não foram detetadas diferenças significativas dentro da mesma amostra de solo. Segundo Brammer & Ravenscroft (2009), o arsênio acumula-se em diferentes proporções em diferentes partes da planta na ordem: raízes > caule > folha > grão, e neste caso a maior concentração verificou-se ao nível da raiz. A raiz é o principal órgão que acumula metais pesados, especialmente arsênio e cádmio (Du *et al.*, 2018).

Verifica-se, no entanto, que a concentração máxima de arsênio na raiz (aproximadamente 300 mg/kg MS) é superior à concentração de arsênio no solo máxima observada (cerca de 35 mg/kg MS solo), isto pode ter ocorrido devido a um erro experimental.

Quanto ao manganês, este elemento foi mais absorvido na zona das raízes da amostra de solo LEZ, solo com maior quantidade deste elemento. Neste caso, não há diferenças significativas dentro do mesmo solo, apenas entre solos diferentes. O teor na raiz é influenciado pela concentração desse elemento no solo, assim como por fatores como o pH, segundo Yoshida *et al.* (1976), a concentração de manganês na solução do solo aumenta após a submersão do solo, pois a redução do manganês é favorecida a pH próximo da neutralidade, como é o caso do solo LEZ.

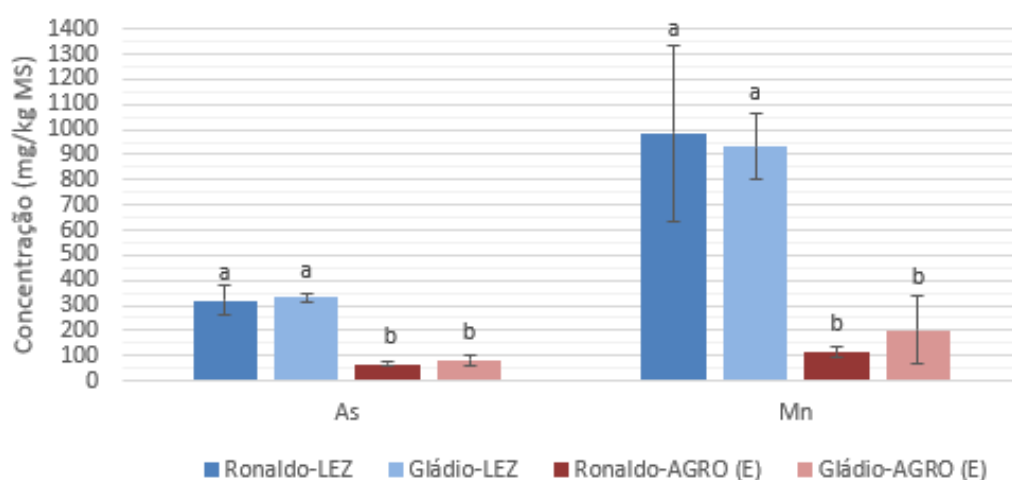


Figura 25 - Concentração (mg/kg MS) de arsênio e manganês na raiz, nas 4 modalidades do estudo. Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

Na **Figura 26** observa-se a concentração de cádmio na raiz nas quatro modalidades em estudo, em que se verifica que a raiz das plantas na amostra de solo LEZ tem maior concentração deste elemento, possivelmente devido também à sua maior concentração neste solo relativamente ao solo AGRO (E). Segundo Khanam *et al.* (2019), a concentração de cádmio é superior na raiz relativamente às outras partes da planta de arroz, o que se verificou neste estudo.

Este elemento é mais móvel em solos ácidos dentro da faixa de pH 4,5 a 5,5, com menor quantidade de argila e de matéria orgânica (Di Toppi & Gabbrielli, 1999; Kabata-Pendias, 2011; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2017), o solo AGRO (E) é o mais próximo destes parâmetros, no entanto, a sua concentração de cádmio era muito menor relativamente ao solo LEZ. Observou-se também que a concentração de cádmio na raiz é superior à concentração deste elemento no solo, o que pode indicar erro experimental.

Pela **Figura 27**, verifica-se uma maior concentração na raiz das variedades da amostra de solo AGRO (E), o que pode estar relacionada com as características deste solo, que tornam o chumbo mais móvel, por exemplo, segundo Varennes (2003), um pH mais baixo promove a absorção de chumbo pelas raízes, e neste caso, o solo AGRO (E) tem um pH mais baixo que o solo LEZ.

Quanto à concentração de cobre na raiz esta é superior na amostra de solo LEZ, no entanto, não existem diferenças significativas entre Ronaldo-LEZ e Gládio-AGRO (E), o que pode indicar condições comuns a nível de propriedades do solo que permitiram a absorção de cobre pela raiz de modo idêntico, e que o solo influencia mais a absorção do elemento do que a variedade da planta.

A concentração de crómio foi mais elevada nas raízes do solo LEZ, sem diferenças significativas entre as variedades. Apenas há diferenças significativas entre os solos.



Por sua vez, a concentração de zinco foi mais elevada nas raízes das variedades no solo LEZ, em que mais uma vez não houve diferenças significativas entre as variedades, mas sim entre os solos, o que indica uma disponibilidade diferente do elemento entre ambos os solos.

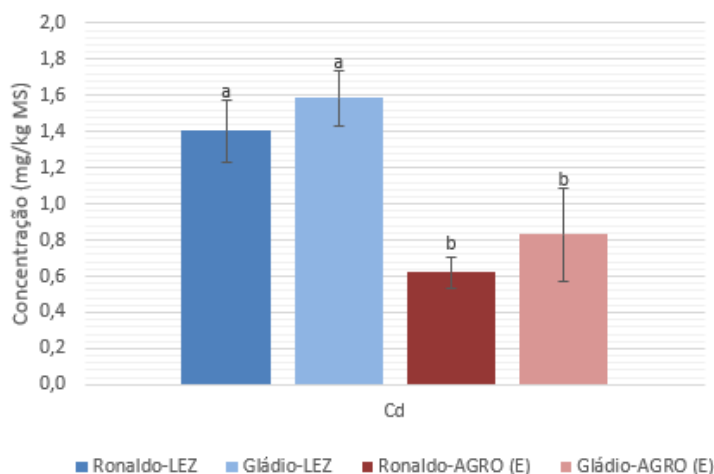


Figura 26 - Concentração (mg/kg MS) de cádmio na raiz, nas 4 modalidades do estudo.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.

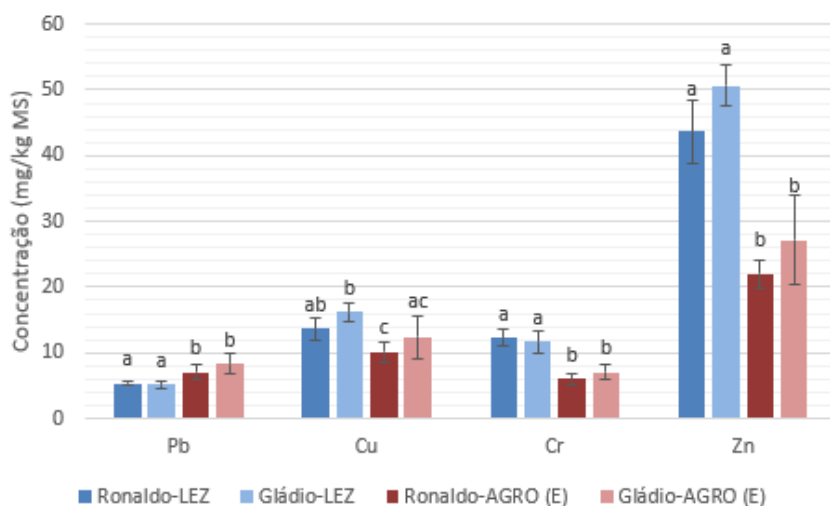


Figura 27 - Concentração (mg/kg MS) de chumbo, cobre, crômio e zinco na raiz, nas 4 modalidades do estudo.

Letras minúsculas diferentes indicam a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as 4 modalidades para cada elemento. As barras de erro indicam os valores de desvio-padrão.



4.3.4. Proporção relativa de EPT nas diferentes partes da planta

Os EPTs são absorvidos pela planta de arroz em diferentes proporções e acumulam-se em diferentes partes da planta. Alguns elementos, mais móveis, tendem a acumular-se maioritariamente na parte aérea, enquanto outros, apresentam maior concentração ao nível da raiz.

Nos gráficos da **Figura 28** está representada a distribuição dos EPT nas diferentes partes da planta, expressa em percentagem em relação à totalidade do EPT na planta, isto é, ao valor correspondente a 100%. Assim, nas figuras estão representadas as proporções de cada EPT nas diferentes partes da planta de arroz, na última colheita, em ambos os solos e em ambas as variedades em estudo.

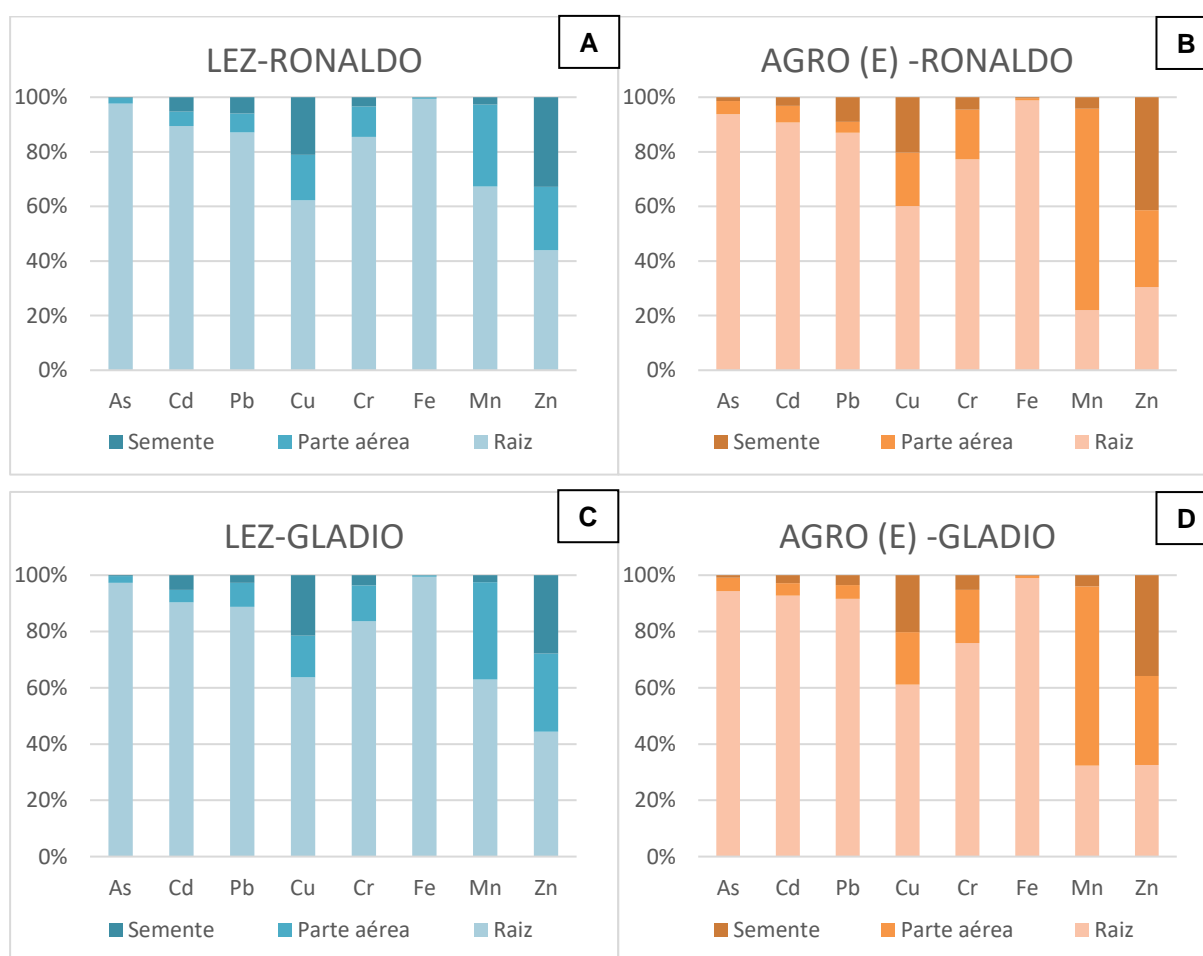


Figura 28 - Proporção de cada elemento nas diferentes partes da planta, em função do solo (Lez, Agro (E)) e da variedade (Ronaldo, Gládio).

Com estas representações é possível verificar que a maior proporção de cada elemento se encontra na raiz, independentemente do solo e da variedade de arroz, exceto no que diz respeito ao manganês e ao zinco no solo Agro (E). Estes dois elementos têm comportamentos divergentes dos restantes elementos no solo Agro (E), dado que se acumulam maioritariamente ao nível da parte aérea, no caso do manganês, e na semente, no caso do zinco.



Em termos gerais, os elementos que apresentaram uma maior proporção na raiz comparativamente às outras partes da planta, parte aérea e semente são, por ordem decrescente:

$$\text{Fe} > \text{As} > \text{Cd} > \text{Pb} > \text{Cr} > \text{Cu} > \text{Mn} > \text{Zn}$$

não havendo diferenças significativas entre as variedades dentro do mesmo tipo de solo. Ao nível da raiz verifica-se que o ferro é o elemento com maior proporção, o que é explicado pela sua baixa mobilidade na planta. O ferro é também o elemento em maior concentração na raiz, como já referido no capítulo 4.3.3. De referir ainda a maior proporção de arsénio na raiz, que permanecendo nesta parte da planta não é nocivo para a alimentação, quer animal quer humana.

Quanto à parte aérea das plantas no solo **Lez**, os elementos que se manifestaram em maior proporção foram:

$$\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Pb} > \text{Cd} > \text{As} > \text{Fe}$$

No solo **Agro (E)**, os elementos que se manifestaram em maior proporção na parte aérea foram:

$$\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{As} > \text{Cd} > \text{Pb} > \text{Fe}$$

Deste modo, o manganês é o elemento mais presente na parte aérea da planta de arroz, comparativamente às outras partes da planta, e é também o elemento em maior concentração.

Já na semente, os elementos com maior proporção são, na variedade **Ronaldo**:

$$\text{Zn} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Pb} > \text{Cr} > \text{Mn} > \text{As} > \text{Fe}$$

Na variedade **Gládio**, os elementos com maior proporção são ligeiramente diferentes da variedade Ronaldo, e com uma ligeira diferença entre solos:

$$\text{Agro (E): } \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Cd} > \text{Cr} > \text{Mn} > \text{As} > \text{Fe}$$

$$\text{Lez: } \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Pb} > \text{Cr} > \text{Mn} > \text{As} > \text{Fe}$$

O arroz fornece 21% de energia e 15% das necessidades em proteínas na alimentação humana (Rehman *et al.*, 2012), deste modo o grão de arroz é uma importante fonte nutricional, e é importante saber de que modo a concentração de elementos no solo pode enriquecer o grão de arroz. A deficiência de zinco, por exemplo, é um dos fatores mais importantes que causam limitações na produtividade do arroz em todo o mundo, sendo também um distúrbio nutricional generalizado que afeta a saúde humana (Rehman *et al.*, 2012).

Destes resultados podemos verificar que o zinco é um elemento que se acumula essencialmente ao nível da semente, em que aparece em concentrações mais elevadas comparativamente com a parte aérea e a raiz, o que é bom tendo em conta que é a parte utilizada na alimentação.



4.4.5. Conclusões intercalares

Semente:

- O ferro é o elemento em maior concentração na semente, e é um elemento essencial para as plantas.
- O cádmio é o elemento em menor concentração na semente, indicando menor risco de acumulação.
- A concentração de cádmio na semente está abaixo do LM estabelecido pelo Regulamento (CE) N° 1881/2006, da Comissão de 19 de dezembro de 2006.
- Para os elementos arsénio e chumbo, os resultados não foram conclusivos, seria importante repetir a análise destes elementos, de modo a verificar se cumprem a legislação para a presença destes elementos no grão de arroz. Obtiveram-se valores na semente acima do LM para o grão de arroz, quando a concentração desses elementos no solo estava dentro do VR para o arsénio e do LM para o chumbo.

Parte aérea:

- O manganês é o elemento em maior concentração na parte aérea, e é um elemento essencial.
- O cádmio é o elemento em menor concentração na parte aérea.
- Pelo Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho, os elementos Cd, Cu, Cr, Pb e Zn estão dentro dos VMA para a utilização da parte aérea como matéria fertilizante.
- Gradiente de concentração dos elementos na parte aérea: $Mn > Fe > Zn > As > Cu > Cr > Pb > Cd$.

Raiz:

- O ferro é o elemento em maior concentração na raiz.
- O cádmio é o elemento em menor concentração na raiz.
- Gradiente de concentração dos elementos na raiz: $Fe > Mn > As > Zn > Cu > Cr > Pb > Cd$.

**Proporção relativa de EPT nas diferentes partes da planta:**

- Dentro do mesmo solo não há diferenças entre as duas variedades em estudo em relação à acumulação de EPT (comparando A com C, B com D).
- A mesma variedade varia ligeiramente entre solos diferentes (comparando A com B, C com D).
- O elemento em maior proporção na raiz é o ferro em ambas as variedades.
- A maioria dos EPTs encontram-se proporcionalmente mais localizados na raiz, exceto o Mn e o Zn que, no solo Agro (E), se encontram mais localizados na parte aérea, e na semente, respetivamente.

5. CONCLUSÕES

Com o trabalho realizado foi possível concluir que:

- O teor de EPT nos solos variou entre ambos os solos em estudo, tendo o solo Lez uma maior concentração de todos os elementos.

- No caso do arsénio, no solo Lez, o VR de 11 mg As/kg MS solo é ultrapassado, o que pode constituir uma fonte de contaminação dos alimentos caso seja utilizado em culturas alimentares. Todos os outros elementos os teores obtidos para o solo estão dentro dos limites previstos na legislação em vigor.

- Os elementos em maior concentração nos solos em estudo foram o ferro, seguido do manganês, zinco e cobre, sendo todos elementos essenciais para a planta, pelo que não vão constituir limitações ao seu desenvolvimento.

- No mesmo tipo de solo não houve diferenças entre as variedades em estudo, o que indica que o solo é maioritariamente responsável pela absorção dos elementos pela planta. No entanto, entre solos a mesma variedade sofre uma ligeira alteração nas concentrações dos elementos, mas não significativa.

- Relativamente à proporção dos elementos na planta de arroz, o ferro foi o elemento em maior proporção na raiz, seguido do manganês na parte aérea e do zinco na semente, isto é, tendo em conta a quantidade do elemento na planta, o que permite verificar que cada elemento poderá ser absorvido pela planta em partes específicas. Verifica-se também que a maior proporção de arsénio fica nas raízes, pelo que não constitui risco para o consumo do grão de arroz.

- Na semente, apesar de em maior proporção estar o zinco, é o ferro que está em maior concentração, possivelmente pela sua mobilidade e facilidade de ligação a outros elementos. De referir, também, que estes dois elementos são importantes na nutrição humana, e a sua presença na semente é uma mais valia.

- O cádmio é o elemento em menor concentração em todas as partes da planta. Estando a sua concentração na semente abaixo do LM estabelecido pelo Regulamento (CE) Nº 1881/2006, da Comissão de 19 de dezembro de 2006, e, portanto, não constituir perigo na segurança alimentar.

- Para os elementos arsénio e chumbo, os resultados não são conclusivos, seria importante repetir a análise destes elementos, de modo a verificar se cumprem a legislação para a presença destes elementos no grão de arroz.

- Na parte aérea, verificou-se o seguinte gradiente de concentração dos elementos: Mn > Fe > Zn > As > Cu > Cr > Pb > Cd.

- Pelo Decreto-Lei nº103/2015, de 15 de junho, os elementos Cd, Cu, Cr, Pb e Zn estão dentro dos VMA para a utilização da parte aérea, o que facilita a utilização do restolho da cultura de arroz para a remediação de solos, por exemplo, em áreas ardidas de modo a evitar a erosão dos solos.

- Na raiz, o ferro é o elemento em maior concentração, o que pode ser justificado pela sua elevada concentração nos solos. Nesta parte da planta obteve-se o seguinte gradiente de concentração dos elementos: Fe > Mn > As > Zn > Cu > Cr > Pb > Cd.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Na sequência do presente trabalho surgiram alguns aspetos que se revelaram interessantes para uma abordagem mais detalhada. De seguida, são referidos sumariamente aqueles que poderão vir a ser objeto de futura investigação:

- Estudo mais completo dos solos (das diferentes propriedades físico-químicas):
 - Cor e temperatura;
 - Consistência;
 - Compressibilidade e compacidade;
 - Estrutura;
 - Adsorção;
 - Potencial redox;
 - Razão C/N;
 - entre outros.
- Estudo *in situ* da cultura de arroz, complementarmente ao estudo em estufa de campo.
- Analisar a água de rega *in situ*, concentração total de sais, quantidade de sódio, concentração de boro, concentração de ião hidrogenocarbonato, assim como dos restantes elementos nela presentes.
- Estudar os fertilizantes utilizados na cultura *in situ*, a sua composição e os efeitos da sua utilização em diferentes concentrações.
- De que modo as concentrações de EPT interferem no crescimento das plantas de arroz e no seu metabolismo.

Estes são alguns parâmetros que podem ser aprofundados numa investigação futura de modo a melhor compreender a absorção de EPT pela planta de arroz, os seus efeitos e como mitigá-los.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adhikari, K., Hartemink, A. E. (2016). *Linking soils to ecosystem services - A global review*. Geoderma, 262, 101-111.

Almeida, A., Marques, P. (2013). *A importância da cultura de arroz em Portugal e no Mundo*. INIAV. Oeiras.

APA – Agência Portuguesa do Ambiente. (2019). *Solos Contaminados – Guia Técnico. Valores de referência para o solo*. Amadora.

Ashraf, U., Kanu, A.S., Mo, Z., Hussain, S., Anjum, S.A., Khan, I., et al. (2015). *Lead toxicity in rice: effects, mechanisms, and mitigation strategies – a mini review*. Environ. Sci. Pollut. Res. 22, 18318-18332.

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2012a). *Toxicological Profile for Cadmium*. Department of Health and Human Services, USA.

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2012b). *Toxicological Profile for Chromium*. Department of Health and Human Services, Public Health Service, USA.

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2012c). *Toxicological profile for Manganese*. Department of Health and Human Services, Public Health Service, USA.

Bhattacharyya, P., Chakraborty, A., Chakrabarti, K., Tripathy, S., Powell, M. (2005). *Chromium uptake by rice and accumulation in soil amended with municipal solid waste compost*. Chemosphere, 60(10), 1481–1486.

Brammer, H., & Ravenscroft, P. (2009). *Arsenic in groundwater: A threat to sustainable agriculture in South and South-east Asia*. Environment International 35: 647–654.

Brun, L., Maillet, J., Richarte, J., Herrmann, P., Remy, J. (1998). *Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils*. Environmental Pollution, 102(2-3), 151–161.

Chang, T., & Bardenas, E. A. (1965). *The Morphology and Varietal Characteristics of the Rice Plant*, Laguna, The Philippines: The International Rice Research Institute.



Costa, M., & Klein, C. B. (2006). *Toxicity and Carcinogenicity of Chromium Compounds in Humans*. Critical Reviews in Toxicology, 36(2), 155–163.

Costanza, R., D'Arge, R., *et al.* (1997). *The value of the world's ecosystem services and natural capital*. Nature, 387(6630): 253–260.

Cortez, N. (1983). *Determinações Laboratoriais de algumas grandezas físicas do solo e utilização de ondas radioactivas para a determinação de perfis de humidade e de densidade aparente*. Relatório de Estágio do curso de Engenheiro Agrónomo. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.

Cresswell, H. P., & Hamilton, G. J. (2002). *Chapter 3: Bulk density and pore space relations*. In: McKenzie, N. J., Coughlan, K. L., Cresswell, H. P. (Eds.), Soil Physical Measurement and Interpretation for Land Evaluation. CSIRO Publishing, Melbourne, pp. 35-59.

Decreto-Lei n.º 103/2015 de 15 de junho. Diário da República n.º 114 - 1ª Série – Ministério da Economia, Lisboa.

Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de agosto. Diário da República n.º 176 - 1ª Série A – Ministério do Ambiente, Lisboa.

Decreto-Lei n.º 276/2009 de 2 de outubro. Diário da República n.º 192 - 1ª – Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, Lisboa.

Dominati, E., Patterson, M., Mackay, A. (2010). *A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils*. Ecological Economics, 69(9), 1858-1868.

Du, F., Yang, Z., Liu, P., Wang, L. (2018). *Accumulation, translocation, and assessment of heavy metals in the soil-rice systems near a mine-impacted region*. Environmental Science and Pollution Research.

Duffus, J.H. (2002). *"Heavy metals" a meaningless term?* IUPAC Technical Report. Pure Appl. Chem. Vol. 74, No. 5, pp. 793-807.

Di Toppi, L. S. & Gabrielli, R. (1999). *Response to cadmium in higher plants*. Environmental and Experimental Botany. 41:105-130.



EEA – European Environment Agency. (2016). *Soil degradation - Environment in EU at the turn of the century (Chapter 3.6)*. Copenhagen, Denmark.

Disponível em:

<https://www.eea.europa.eu/publications/92-9157-202-0/page306.html>

Acedido a: 25 de abril de 2019.

EFSA – European Food Safety Authority. (2006). *Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals*.

Disponível em:

http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/efsa_rep/blobserver_assets/ndatolerableuil.pdf

Acedido a: 24 de julho de 2019.

EFSA – European Food Safety Authority. (2012). *Cadmium dietary exposure in the European population* European Food Safety Authority. The EFSA Journal. 10 (1): 2551- 2588.

Fahad, S., Rehman, A., Shahzad, B., Tanveer, M., Saud, S., Kamran, M., Ihtisham, M., Khan, S., Turan, V., Rahman, M. (2019). *Rice Responses and Tolerance to Metal/Metalloid Toxicity*. Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance, 299–312.

Fan, Y., Zhu, T., Li, M., He, J., Huang, R. (2017). *Heavy Metal Contamination in Soil and Brown Rice and Human Health Risk Assessment near Three Mining Areas in Central China*. Journal of Healthcare Engineering, Vol.2017.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2015). *Soil is a non-renewable resource - Its preservation is essential for food security and our sustainable future*.

Disponível em:

<http://www.fao.org/soils-2015/news/news-detail/pt/c/275770/>

Acedido a: 14 de abril de 2019.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2017a). *Voluntary Guidelines for Sustainable Soil Management*. Rome, Italy.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2017b). *FAO Rice Market Monitor, Volume XX Issue No. 4*.

Disponível em:

<http://www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/>

Acedido a: 23 de abril de 2018.



FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2019). *Key definitions: What is soil?*

Disponível em:

<http://www.fao.org/soils-portal/about/all-definitions/en/>

Acedido a: 28 de março de 2019.

FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. (2017). *Global Rice production*.

Disponível em:

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>

Acedido a: 23 de abril de 2018.

Frelih-Larsen, A., et al. (2016). *Updated Inventory and Assessment of Soil Protection Policy Instruments in EU Member States*. Final Report to DG Environment. Berlin: Ecologic Institute.

Gao, L. Z., & Innan, H. (2008). *Nonindependent domestication of the two rice subspecies, Oryza sativa ssp indica and ssp japonica, demonstrated by multilocus microsatellites*. Genetics 179(2): 965-976.

Gao, X., Hoffland, E., Stomph, T., Grant, C. A., Zou, C., Zhang, F. (2011). *Improving zinc bioavailability in transition from flooded to aerobic rice. A review*. Agronomy for Sustainable Development, 32(2), 465–478.

Ghnaya, A.B., Charles, G., Hourmant, A., Hamida, J.B., Branchard, M. (2009). *Physiological behaviour of four rapeseed cultivar (Brassica napus L.) submitted to metal stress*. Comptes Rendus Biologies. 332: 363-370.

Gomes, M., Silva, A. (1962). *Um novo diagrama triangular 1364 para a classificação básica da textura do solo*. Estudos Agronômicos, Lisboa, 3 (1) 1-9.

Gomez-Caminero, A., Howe, Paul D., Hughes, M., Kenyon, E., Lewis, D. R. et al. (2001). *Arsenic and arsenic compounds*. World Health Organization. Geneva, Switzerland.

Grisso, R., Alley, M., Holshouser, D., Thomason, W. (2009). *Precision Farming Tools: Soil Electrical Conductivity*. Virginia Cooperative Extension Publication. pp. 442-508.

GRiSP – Global Rice Science Partnership. (2013). *Rice Almanac. 4th Edition*, International Rice Research Institute, Los Baños, Philipines.



Hartemink, A. E. (2016). *The definition of soil since the early 1800s*. Advances in Agronomy (Vol. 137). Elsevier Inc.

He, M., Shen, H., Li, Z., Wang, L., Wang, F., Zhao, K., et al. (2019). *Ten-year regional monitoring of soil-rice grain contamination by heavy metals with implications for target remediation and food safety*. Environmental Pollution, 244, 431–439.

Howe, P.D., Malcolm, H.M., Dobson, S., World Health Organization & International Programme on Chemical Safety. (2004). *Manganese and its compounds: environmental aspects*. World Health Organization. Geneva, Switzerland.

INE – Instituto Nacional de Estatística. (2018). *Balanços de Aprovisionamento de Produtos Vegetais: Consumo humano de arroz branqueado per capita (kg/hab) por comprimento de grão*. Disponível em:

https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000186&contexto=bd&selTab=tab2

Acedido a: 30 de abril de 2018.

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (2016). *Características de retenção de água no solo para utilização na rega das culturas*. Oeiras.

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. (2015). *Composição dos alimentos*. Disponível em: <http://portfir.insa.pt/>

Acedido a: 2 de maio de 2018.

Jahn, R., Blume, H.P., Asio, V., Spaargaren, O., Schad, P. (2006). *FAO Guidelines for Soil Description*. Rome, Italy.

Kabata-Pendias A. (2011). *Trace Elements in Soils and Plants*. 4ª Edição. CRC Press, Boca Raton, USA.

Khanam, R., Kumar, A., Nayak, A. K., Shahid, M., Tripathi, R., Vijayakumar, S., et al. (2019). *Metal(loid)s (As, Hg, Se, Pb and Cd) in paddy soil: Bioavailability and potential risk to human health*. Science of The Total Environment, 134330.

Lakanen, E., & Erviö, R. (1971). *A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soil*. Acta Agralia Fennica., 123, p. 223-232. ISSN: 0039-5595.



Li, H., Luo, N., Li, Y., Cai, Q.Y., Li, H.Y., Mo, C., Wong, M.L. (2017). *Cadmium in rice: Transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures*. Environmental pollution, 224, 622-630.

Liu, W.-X., Shen, L.-F., Liu, J.-W., Wang, Y.-W., Li, S.-R. (2007). *Uptake of Toxic Heavy Metals by Rice (Oryza sativa L.) Cultivated in the Agricultural Soil near Zhengzhou City, People's Republic of China*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 79(2), 209–213.

Lu, B. R., Cai, X., et al. (2009). *Efficient indica and japonica rice identification based on the InDel molecular method: Its implication in rice breeding and evolutionary research*. Progress in Natural Science 19(10): 1241-1252.

Mandal, B., & Suzuki, K. (2002). *Arsenic round the world: a review*. Talanta, 58(1), 201–235.

Mani, A., & Sankaranarayanan, K. (2018). *Heavy Metal and Mineral Element-Induced Abiotic Stress in Rice Plant*. Rice Crop - Current Developments.

Mao, C., Song, Y., Chen, L., Ji, J., Li, J., Yuan, X., Yang, Z., Ayoko, G., Frost, R., Theiss, F. (2019). *Human health risks of heavy metals in paddy rice based on transfer characteristics of heavy metals from soil to rice*. CATENA. 175. 339-348.

Nagajyoti, P., Lee, K., Sreekanth, T. (2010). *Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review*. Environmental Chemistry Letters 8, 199-216.

Nortcliff, S. (2002). *Standardisation of soil quality attributes*. Agriculture, Ecosystems and Environment 88: 161–168.

Norton, G. J. (2019). *Rice minerals and heavy metal(oid)s*. Rice, 169–194.

Novarroz. (2013). *A produção de arroz em Portugal*.

Disponível em:

<http://novarroz.pt/mundo-do-arroz/historia-do-arroz/a-producao-de-arroz-em-portugal/>

Acedido a: 5 de maio de 2018.

Pilon-Smits, E. (2005). *Phytoremediation*. Annual Review of Plant Biology, 56, 15-39.

Póvoas, I., & Barral, M.F. (1992). *Métodos de análises de solos*. Série de Ciências Agrárias nº10. Instituto de Investigação Científica Tropical. Ministério do Planeamento e da Administração do Território, Lisboa.



Qi, Y., Zhang, H., Zhang, D., Wang, M., Sun, J., Ding, L., *et al.* (2009). *Assessing indica-japonica differentiation of improved rice varieties using microsatellite markers*. Journal of Genetics and Genomics, 36(5), 305–312.

Reid, W.V., Mooney, H.A., Cropper, A., *et al.* (2005) *Millennium Ecosystem Assessment. In Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press: Washington, D.C., USA.

Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de dezembro de 2006, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.

Regulamento (UE) 2015/1006 da Comissão, de 25 de junho de 2015, que altera o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 no que diz respeito aos teores máximos de arsénio na forma inorgânica nos géneros alimentícios.

Rehman, H., Aziz, T., Farooq, M., Wakeel, A., Rengel, Z. (2012). *Zinc nutrition in rice production systems: a review*. Plant and Soil, 361(1-2), 203–226.

Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M. and Pennock, D. (2018). *Soil Pollution: a hidden reality*. Rome, FAO. 142 pp.

Schollenberger, C.J., & Simon, R.H. (1945). *Determination of Exchange Capacity and Exchangeable Bases in Soil-Ammonium Acetate Method*. Soil Science, 59, 13-24.

Science Communication Unit. (2013). Science for Environment Policy In-depth Report: *Soil Contamination: Impacts on Human Health*. Report produced for the European Commission DG Environment. University of the West of England, Bristol, United Kingdom.

Singh, R., & Jwa, N. S., (2013). *Understanding the responses of rice to environmental stress using proteomics*. Journal of Proteome Research. 12 (11), 4652–4669.

Smith, E., Naidu, R., Alston, A. M. (1998). *Arsenic in the Soil Environment: A Review*. Advances in Agronomy, 149–195.

Soil Science Division Staff. (2017). *Soil survey manual*. United States Department of Agriculture Handbook 18. Government Printing Office. Washington, D.C., USA.



Sustainable Food Trust. (2015). *Soil degradation: a major threat to humanity*. Bristol, United Kingdom.

Disponível em:

http://www.fao.org/fsnforum/sites/default/files/discussions/contributions/Soil-degradation-Final-final_0.pdf

Acedido a: 26 de abril de 2019.

UNGA – United Nations General Assembly. (2015). *Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development*, A/RES/70/1.

Van der Ent, A., Baker, A. J. M., Reeves, R. D., Pollard, A. J., Schat, H. (2012). *Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction*. Plant and Soil, (362), 319-334.

Van Liedekerke, M., G. Prokop, S. Rabl-Berger, M. Kibblewhite, G. Louwagie. (2014). *Progress in the management of Contaminated Sites in Europe*. European Commission Joint Research Centre. Institute for Environment and Sustainability. Ispra. Report EUR 26376EN.

Varenes, A. (2003). *Produtividade dos Solos e Ambiente*. Escolar (Ed.). Lisboa.

WHO – World Health Organization. (2011a). *Safety evaluation of certain contaminants in food*. Seventy-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Rome, Italy.

WHO – World Health Organization. (2011b). *Safety evaluation of certain contaminants in food*. Seventy-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, Switzerland.

WHO – World Health Organization. (2013). *Evaluation of certain food additives and contaminants*. WHO Technical Report Series 983. Seventy-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Rome, Italy.

Yoshida, S., Forno, D. A., Cook, J. H., Gomez, K. A. (1976). *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*, International Rice Research Institute, Philippines.

Yruela, I. (2009). *Copper in plants: acquisition, transport and interactions*. Functional Plant Biology, 36(5), 409.

Zhang, J. Z. (2009). *The Toxicity Assessment of Heavy Metals and their Species in Rice*, University of Cincinnati, Ohio, USA.



Zhao, F. J., McGrath, S. P., Meharg, A. A. (2010). *Arsenic as a Food Chain Contaminant: Mechanisms of Plant Uptake and Metabolism and Mitigation Strategies*. Annual Review of Plant Biology, 61(1), 535–559.

Zhou, H., Yang, W.T., Zhou, X., Liu, L., Gu, J.F., *et al.* (2016). *Accumulation of Heavy Metals in Vegetable Species Planted in Contaminated Soils and the Health Risk Assessment*. International Journal of Environmental Research & Public Health.